

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平9-506434

(43) 公表日 平成9年(1997)6月24日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I
G 0 1 N 33/543	5 2 1	0276-2 J	G 0 1 N 33/543
33/532		0276-2 J	33/532
33/543	5 4 1	0276-2 J	33/543
			5 2 1
			A
			5 4 1 Z

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全145頁)

(21) 出願番号 特願平7-516271  
 (86) (22) 出願日 平成6年(1994)12月6日  
 (85) 翻訳文提出日 平成8年(1996)6月5日  
 (86) 国際出願番号 P C T / U S 9 4 / 1 3 9 8 2  
 (87) 国際公開番号 W O 9 5 / 1 6 2 0 7  
 (87) 国際公開日 平成7年(1995)6月15日  
 (31) 優先権主張番号 0 8 / 1 6 3 , 8 6 0  
 (32) 優先日 1993年12月7日  
 (33) 優先権主張国 米国 (U S)

(71) 出願人 スミスクライン ダイアグノスティックス  
 インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 95134-1622 カリフォルニア州 サン ノゼ ベイポイント パークウェイ 225  
 (72) 発明者 チェンドラー、ハウアド エム  
 アメリカ合衆国 04096 メイン州 ヤーマウス プリンスィーズ ポイント ロード 76A  
 (74) 代理人 弁理士 松永 宣行

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 試薬供給を調節する障壁を有する検定装置

## (57) 【要約】

試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置において開口を含む障壁を用いて装置への試薬類の供給を調節し、結果の再現性をより良くする。その最も簡単な形では、装置は；(1) 第1端部(14)、第2端部(16)及び第1及び第2面(18、20)を有し、検出ゾーンに固定された対被検体-特異的結合パートナーを有するクロマトグラフィーメジウム(12)と；(2) 第1端部(14)及び第2端部(16)の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；(3) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接する実質上液体不透過性障壁(30)とからなり、障壁(30)は液体をクロマトグラフィーメジウム(12)に供給するための少なくとも1つの開口(32)を有し、障壁(30)はクロマトグラフィーメジウム(12)への液体供給を少なくとも部分的に阻止する。この装置はサンドイッチまたは競合的検定に用いることができ、増幅検定、例えば銀増幅または酵素増幅を用いる検定にも用いることができる。諸成分は装置内で種々の配列をとることができ、フィルタなどの要素を備

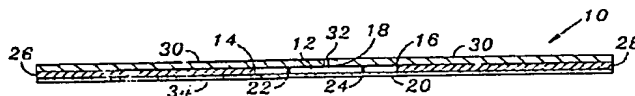


FIG. 1

**【特許請求の範囲】**

1. 試験サンプル中の被検体の検出及び／または決定のための検定装置であって、

(a) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに対被検体－特異的結合パートナーを固定して含むクロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための少なくとも1つの開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、液体のクロマトグラフィーメジウムへの供給を少なくとも部分的に阻止する障壁；とからなり、クロマトグラフィーメジウム、吸収体、障壁及び開口が、障壁に供給された液体が少なくとも1つの吸収体によってクロマトグラフィーメジウムから引き出され、被検体及びその被検体のための検出試薬がクロマトグラフィーメジウム上の検出ゾーンで3成分コンプレックスを形成し得るように配列する検定装置。

2. 最低2つの吸収体を含んでなり、その1つはクロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触し、1つはクロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する請求の範囲第1項記載の検定装置。

3. 検出ゾーンがクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さく、クロマトグラフィーメジウムはさらに、クロマトグラフィーメジウムより実質的に小さい面積の、検出ゾーンと重ならない、被検体またはその同族体を固定して含むコントロールゾーンを含み、上記コントロールゾーン及び検出ゾーンは開口及び吸収体に対して、検出ゾーンが開口と1つの吸収体との間にあり、コントロールゾーンが開口と他の吸収体との間にあるように置かれる請求の範囲第2項記載の検定装置。

4. クロマトグラフィーメジウムの底面に隣接する実質上透明の裏地をさらに含む請求の範囲第1項記載の検定装置。

5. 開口が障壁の面積より実質的に小さく、障壁とクロマトグラフィーメジウムは、液体が上記開口を通してのみ、障壁に隣接するクロマトグラフィーメジウム

ム領域に入ることができるように配置される請求の範囲第1項記載の検定装置。

6. クロマトグラフィーメジウムと少なくとも1つの吸収体は、クロマトグラフィーメジウム面に実質上平行せる第2面に位置する障壁と実質上平行である請求の範囲第1項記載の検定装置。

7. 試験サンプル中の被検体の検出及び／または決定のための試験キットであって、別々の容器に

(a) 請求の範囲第1項記載の検定装置と；

(b) 被検体に対する標識検出試薬の水溶液とを含む試験キット。

8. 水性サンプル中の被検体の検出及び／または決定のための方法であって：

(a) サンプルを被検体に対する標識検出試薬水溶液と混合し、サンプルとその標識検出試薬とを含む溶液を形成し；

(b) サンプル及び標識検出試薬を含む溶液を請求の範囲第1項記載の検定装置の開口に供給し；

(c) サンプルと被検体－標識検出試薬をクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流し；

(d) 検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

9. 試験サンプル中の被検体の検出及び／または決定のための検定装置であって：

(a) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに対被検体－特異的結合パートナーを固定して含むクロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための少なくとも1つの開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、液体のクロマトグラフィーメジウムへの供給を少なくとも部分的に阻止する障壁と；

(d) 障壁に隣接するアプリケーションタであって、被検体のための標識検出試薬を

、そのアプリケータへの水性液体の添加により再溶解し得る形で含み、障壁が上記アプリケータとクロマトグラフィーメジウムとの間にあり、アプリケータに供給されたサンプルは特異的結合パートナーを再溶解した後に開口から引き出され、その後少なくとも1つの吸収体によってクロマトグラフィーメジウムを流れて、その結果被検体とその被検体の検出試薬とはクロマトグラフィーメジウム上の検出ゾーンに3成分コンプレックスを形成することができるアプリケータ；とからなる検定装置。

10. 少なくとも2つの吸収体を含んでなる検定装置であって、1つはクロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触し、1つはクロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触し、検出ゾーンはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質上小さく、クロマトグラフィーメジウムは、クロマトグラフィーメジウムの面積より実質上小さい面積の、検出ゾーンとは重ならない、被検体またはその同族体を固定して含むコントロールゾーンをさらに含み、コントロール及び検出ゾーンは開口及び吸収体に対して、検出ゾーンが開口と1つの吸収体との間にあり、コントロールゾーンが開口と他の吸収体との間にあるように置かれる請求の範囲第9項記載の検定装置。

11. 被検体の検出試薬が上記被検体の標識特異的結合パートナーである請求の範囲第9項記載の検定装置。

12. 標識特異的結合パートナーの標識が目で検出できる標識である請求の範囲第11項記載の検定装置。

13. 水性サンプル中の被検体を検出及び決定するための方法であって、

(a) 請求の範囲第9項記載の検定装置のアプリケータにサンプルを供給し；

(b) サンプルと再溶解した標識検出試薬を含むアプリケータ中で、サンプルによって標識検出試薬を再溶解させて溶液を形成し、；

(c) サンプルと再溶解した標識検出試薬を含む溶液を、開口を通して、その後クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ；

(d) 検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法

。

14. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するクロマトグラフィー検定装置であって：

(a) (i) 第1端部、第2端部、及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに固定された対被検体-特異的結合パートナーを含むクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、その障壁は液体のクロマトグラフィーメジウムへの供給を少なくとも部分的に阻止する障壁；とを含む第1対置成分と；

(b) 少なくとも1つの反応体を開口を介して直接または間接的にクロマトグラフィーメジウムに供給する第2対置成分とからなり；第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させるとき第2対置成分が少なくとも1つの反応体を開口を介して直接または間接的にクロマトグラフィーメジウムに供給するように配置されるクロマトグラフィー検定装置。

15. 第1及び第2対置成分を対置させ、圧によって少なくとも1つの反応体が開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなる請求の範囲第14項記載の検定装置。

16. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するクロマトグラフィー検定装置であって：

(a) (i) 第1端部、第2端部、及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに固定された対被検体-特異的結合パートナーを含むクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための1開口を有する実質上液体不透過性障壁であつ

て、その障壁は液体のクロマトグラフィーメジウムへの供給を少なくとも部分的に阻止する障壁と；

(iv) 障壁に隣接するアプリケータであって、そのアプリケータは被検体に対する標識検出試薬を、アプリケータへの水性液体の添加により再溶解し得る形で含み、そのアプリケータは障壁がアプリケータとクロマトグラフィーメジウムとの間にあるように配置され、アプリケータに供給された水性液体が検出試薬を再溶解した後に開口を介して引き出され、その後少なくとも1つの吸収体によってクロマトグラフィーメジウムを通して流れ、被検体と標識検出試薬がクロマトグラフィーメジウム上の検出ゾーンで3成分コンプレックスを形成することができるように配置されたアプリケータ；とからなる第1対置成分と、

(b) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分とからなり、第1及び第2対置成分は第1及び第2対置成分を対置させるとき、サンプル調製ゾーンがアプリケータと接触し、サンプル調製ゾーンにあるサンプルがアプリケータに供給され、再溶解可能の検出試薬を再溶解し、クロマトグラフィーメジウム上でクロマトグラフィーを行うように配置されるクロマトグラフィー検定装置。

17. 少なくとも2つの吸収体を含み、その1つはクロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触し、1つはクロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触し、検出ゾーンはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質上小さく、クロマトグラフィーメジウムはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質上小さい面積の、検出ゾーンと重ならない、被検体またはその同族体を固定して含むコントロールゾーンをさらに含み、コントロールゾーンと検出ゾーンとは開口及び吸収体に対して、検出ゾーンが開口と1つの吸収体との間にあり、コントロールゾーンが開口と他の吸収体との間にあるように配置される請求の範囲第16項記載の検定装置。

18. 被検体の検出試薬がその被検体の標識特異的結合パートナーである請求の範囲第16項記載の検定装置。

19. 標識特異的結合パートナーの標識が目で検出できる標識である請求の範囲第18項記載の検定装置。

20. サンプル調製ゾーンがサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含

む請求の範囲第16項記載の検定装置。

21. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) サンプルを請求の範囲第16項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) 第1及び第2対置成分を対置させてサンプルをサンプル調製ゾーンからアプリケータに移行させ；

(c) サンプルをアプリケータに移行させて、アプリケータ中の標識検出試薬を再溶解して、移行したサンプルと再溶解した標識検出試薬とを含む溶液をアプリケータ中で形成し；

(d) サンプルと標識検出試薬を含む溶液を障壁の開口を介してクロマトグラフィームジウムに導入し、それからクロマトグラフィームジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を流れさせ、

(e) 検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

22. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) サンプルを請求の範囲第20項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) サンプル調製ゾーンのサンプルをインキュベートして、サンプル処理のための少なくとも1つの試薬をサンプルと反応させて処理サンプルを生成せしめ；

(c) 処理サンプルがサンプル調製ゾーンからアプリケータに移行するように第1及び第2対置成分を対置させ；

(d) 処理サンプルをアプリケータに移行させてアプリケータ中の標識検出試薬を再溶解させ、アプリケータ中で移された処理サンプルと再溶解した標識検出試薬を含む溶液を形成せしめ；

(e) 処理サンプルと再溶解した標識検出試薬とを含む溶液を障壁の開口を介

してクロマトグラフィーメジウムに導入し、それからクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を流れさせ；

(f) 検出ゾーンの標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

23. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するためのクロマトグラフィー検定装置であって、

(a) (i) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、对被検体—特異的結合パートナーを固定して含むクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも部分的に阻止する障壁；とからなる第1対置成分と；

(b) 被検体のための標識検出試薬を、そのアプリータへの水性液体の添加によって再溶解し得る形で含む、サンプルを供給するためのアプリータを含んでなる第2対置成分とからなり、

第1及び第2対置成分を対置させるとき、アプリータは障壁と作動接触し、その結果アプリータ中のサンプルと再溶解した検出試薬とが障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給され、クロマトグラフィーメジウム上でクロマトグラフィーが行われるように、第1及び第2対置成分が配置されるクロマトグラフィー検定装置。

24. 少なくとも2つの吸収体を含んでなり、その1つはクロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触し、1つはクロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触し、検出ゾーンはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質上小さく、クロマトグラフィーメジウムは、クロマトグラフィーメジウムの面積より実質上小さい、検出ゾーンとは重ならない、被検体またはその同族体を固定して含むコントロールゾーンをさらに含み、コントロール及び検出ゾーンは開口及び吸収体に対して、検出ゾーンが開口と1つの吸収体との間にあり、コントロール



ゾーンが開口と他の吸収体との間にあるように配置される請求の範囲第23項記載の検定装置。

25. 被検体の検出試薬がその被検体の標識特異的結合パートナーである請求の範囲第23項記載の検定装置。

26. 標識特異的結合パートナーの標識が目で検出できる標識である請求の範囲第24項記載の検定装置。

27. アプリケータがサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含む請求の範囲第23項記載の検定装置。

28. 第1及び第2対置成分を対置させ、圧によってサンプル及び再溶解した検出試薬が開口を介してクロマトグラフィーメジウムへ供給されやすくなる請求の範囲第23項記載の検定装置。

29. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

---

(a) サンプルを請求の範囲第23項記載の検定装置のアプリケータに供給し

;

(b) サンプルをしてアプリケータ内の標識検出試薬を再溶解させ、アプリケータ中にサンプルと再溶解した検出試薬とを含む溶液を形成せしめ;

(c) 第1及び第2対置成分を対置させて、サンプルと再溶解した検出試薬とを含む溶液が障壁の開口からクロマトグラフィーメジウムに供給されるようにし;

(d) サンプルと標識検出試薬とを含む溶液をクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を流動させ;

(e) 検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法

。

30. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって、

(a) (i) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、対被検体-特異的結合パートナーを固定して含むクロマトグラフィーメジウムと;

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも部分的に阻止する障壁と；

(iv) 障壁に隣接し、微粒子を除去するためのフィルター；とを含んでなり、クロマトグラフィーメジウムと障壁とフィルターは、障壁がフィルターとクロマトグラフィーメジウムとの間にあるように配置される第1対置成分と；

(b) 被検体のための標識検出試薬を、そのアプリケーションタへの水性液体の添加によって再溶解し得る形で含む、サンプル供給のためのアプリケーションタを含んでなる第2対置成分とからなり、第1及び第2成分を対置させるときアプリケーションタがフィルターと作動接触し、その結果アプリケーションタ中のサンプルと再溶解した標識検出試薬とはフィルターに供給され、その後障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに入り、クロマトグラフィーメジウム上でクロマトグラフィーが行われるように第1及び第2対置成分が配置される検定装置。

31. 1つはクロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触し、1つはクロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する少なくとも2つの吸収体を含んでなり、検出ゾーンはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さく、クロマトグラフィーメジウムはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さい面積の、検出ゾーンとは重ならない、被検体及びその同族体を固定して含むコントロールゾーンをさらに含み、コントロール及び検出ゾーンは開口及び吸収体に対して、検出ゾーンが開口と1つの吸収体との間にあり、コントロールゾーンが開口と他の吸収体との間にあるように配置される請求の範囲第30項記載の検定装置。

32. 被検体のための検出試薬がその被検体の標識特異的結合パートナーである請求の範囲第30項記載の検定装置。

33. 標識特異的結合パートナーの標識が目で検出できる標識である請求の範囲第32項記載の検定装置。

34. アプリケーターがサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含む請求の範囲第30項記載の検定装置。

35. フィルターが糞便物質を除去する請求の範囲第30項記載の検定装置。

36. 第1及び第2対置成分を対置させ、圧によってサンプル及び再溶解した検出試薬が開口を介してクロマトグラフィーメジウムへ供給されやすくなる請求の範囲第30項記載の検定装置。

37. 水性試験サンプル中の被検体の検出及び／または決定のための方法であって、

(a) サンプルを請求の範囲第30項記載の検定装置のアプリケーターに供給し

；

(b) サンプルをしてアプリケーター内の標識検出試薬を再溶解せしめ、アプリケーター中でサンプルと再溶解した検出試薬とを含む溶液を形成せしめ；

(c) 第1及び第2対置成分を対置させて、サンプルと再溶解した検出試薬とを含む溶液が障壁の開口からクロマトグラフィーメジウムに供給されるようにし；

(d) サンプルと標識検出試薬とを含む溶液をフィルターを通過させて濾液を生成し；

(e) 濾液を障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに導入し、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を流れさせ；

(f) 検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

38. 試験サンプル中の被検体の検出及び／または決定のための検定装置であって、

(a) (i) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、对被検体一特異的結合パートナーを固定して含むクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィー

メ

ジウムに液体を供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも部分的に阻止する障壁と；

(iv) 障壁に隣接し、対被検体—標識検出試薬を、アプリケーションタへの水性液体添加によって再溶解し得る形で含むアプリケーションタと；

(v) 障壁に隣接し、微粒子を除去するためのフィルター；とを含み、クロマトグラフィーメジウムと障壁とフィルターは、アプリケーションタがフィルターとクロマトグラフィーメジウムとの間にあるように配置される第1対置成分と；(b) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分とからなり、第1及び第2成分を対置させるときアプリケーションタがフィルターとサンプル調製ゾーンはフィルターと作動接触し、その結果サンプルはフィルターに供給され、濾過済みサンプルと標識特異的結合パートナーとの溶液は障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されるように第1及び第2対置成分が配置される検定装置。

39. 1つはクロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触し、1つはクロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する少なくとも2つの吸収体を含んでなり、検出ゾーンはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さく、クロマトグラフィーメジウムはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さい面積の、検出ゾーンとは重ならない、被検体及びその同族体を固定して含むコントロールゾーンをさらに含み、コントロール及び検出ゾーンは開口及び吸収体に対して、検出ゾーンが開口と1つの吸収体との間にあり、コントロールゾーンが開口と他の吸収体との間にあるように配置される請求の範囲第38項記載の検定装置。

40. 被検体の検出試薬が被検体の標識特異的結合パートナーである請求の範囲第38項記載の検定装置。

41. 標識特異的結合パートナーの標識が目で検出できる標識である請求の範囲第39項記載の検定装置。

42. サンプル調製ゾーンがサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含

む請求の範囲第38項記載の検定装置。

43. フィルターが糞便物質を除去する請求の範囲第38項記載の検定装置。

44. 第1及び第2対置成分を対置させ、圧によって、濾過ずみサンプル及び標識特異的結合パートナーの溶液が開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなる請求の範囲第38項記載の検定装置。

45. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) サンプルを請求の範囲第38項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) 第1及び第2対置成分を対置させて、サンプルをサンプル調製ゾーンからフィルターに移行させ；

(c) フィルターに移行したサンプルをそのフィルターを通過させ、濾過ずみサンプルを生成せしめ；

(d) 濾過ずみサンプルはアプリケータに入り、アプリケータ中の標識検出試薬を再溶解し、アプリケータ中に濾過ずみサンプルと再溶解した検出試薬とを含む溶液を生成し；

(e) 濾過ずみサンプルと再溶解した標識検出試薬とを含む溶液は障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに入り、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れ；

(f) 検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

46. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) サンプルを請求の範囲第42項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) サンプル調製ゾーンのサンプルをインキュベートして、サンプル処理のための少なくとも1つの試薬がサンプルと反応して処理サンプルを生成するよう

にし；

(c) 第1及び第2対置成分を対置させ、処理サンプルをサンプル調製ゾーンからフィルターに移行させ；

(d) フィルターに移行した処理済みサンプルをフィルターを通過させて濾過された処理サンプルを生成せしめ；

(e) 濾過された処理サンプルをアプリータに導入し、アプリータ中の標識検出試薬を再溶解して、アプリータ中に濾過された処理サンプルと再溶解した標識検出試薬とを含む溶液を生成せしめ；

(f) 濾過された処理サンプルと再溶解した標識検出試薬とを含む溶液は障壁の開口からクロマトグラフィーメジウムに入り、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を流れ；

(g) 検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

47. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって、

(a) (i) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに固定された対被検体－特異的結合パートナーを含むクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口を有する第1の実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも部分的に阻止する第1障壁と；

(iv) 第1障壁に隣接し、対被検体－標識検出試薬を、アプリータへの水性液体添加によって再溶解し得る形で含むアプリータと；

(v) アプリータの第1の部分に隣接する第2の実質上液体不透過性障壁と

;

(vi) 第2障壁に隣接し、隣接していないアプリータ第2部分と作動接触し、分配膜であって、液体はその分配膜から第2障壁周囲のアプリータに流れることができるという分配膜とからなる第1対置成分と;

(b) 試験サンプルを含むスワブのための収容部を含めた第2対置成分とからなり、第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させる結果、サンプルは分配膜に供給され、その後クロマトグラフィーメジウムに供給されるように配置される検定装置。

48. 1つはクロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触し、1つはクロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する少なくとも2つの吸収体を含んでなり、検出ゾーンはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さく、クロマトグラフィーメジウムはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さい面積の、検出ゾーンとは重ならない、被検体及びその同族体を固定して含むコントロールゾーンをさらに含み、コントロール及び検出ゾーンは開口及び吸収体に対して、検出ゾーンが開口と1つの吸収体との間にあり、コントロールゾーンが開口と他の吸収体との間にあるように配置される請求の範囲第47項記載の検定装置。

49. 被検体の標識検出試薬がその被検体の標識特異的結合パートナーである請求の範囲第47項記載の検定装置。

50. 標識特異的結合パートナーの標識が目で検出できる標識である請求の範囲第49項記載の検定装置。

51. 第1及び第2対置成分を対置させ、圧によってサンプルが開口を介してクロマトグラフィーメジウムへ供給されやすくなる請求の範囲第47項記載の検定装置。

52. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) 試験サンプルを含むスワブを請求の範囲第47項記載の検定装置の収容部に置き;

(b) 検定装置の第1及び第2対置成分を対置させ、試験サンプルがスワブから分配膜に移行するようにし；

(c) サンプルはアプリケータに入り、アプリケータの標識検出試薬を再溶解し、アプリケータ中でサンプルと再溶解した標識検出試薬とを含む溶液を生成し；

(d) サンプルと標識検出試薬とを含む溶液はクロマトグラフィーメジウムに入り、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を流れ；

(e) 検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

53. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって、

(a) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに第2の特異的結合パートナーを固定して含むクロマトグラフィーメジウムであって、第2の特異的結合パートナーは被検体に対する親和性をもたない特異的結合対のメンバーと結合することができ、

(b) 第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための少なくとも1つの開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、その障壁はクロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも部分的に阻止する障壁と；

(d) 障壁に隣接し、対被検体－特異的結合パートナーを固定して含む親和性膜；とからなり、クロマトグラフィーメジウムと吸収体と障壁と開口と親和性膜は、親和性膜に供給された液体が少なくとも1つの吸収体によってクロマトグラフィーメジウムを通して引き出され、もしも被検体がサンプル中に存在するならば標識検出試薬はクロマトグラフィーメジウムの検出ゾーンに結合するように配



置される検定装置。

54. 親和性膜に供給された液体が圧によって開口を介してクロマトグラフィーメジウムへ入りやすくなるように、第1及び第2対置成分を対置させることができる請求の範囲第47項記載の検定装置。

55. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって、

(a) (i) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに第2の特異的結合パートナーを固定して含むクロマトグラフィーメジウムであって、第2特異的結合パートナーはその被検体に対する親和性をもたない特異的結合対のメンバーに結合できるクロマトグラフィーメジウムと；

~~(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触する第1吸収体と；~~

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する第2吸収体と

；

(iv) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、上記開口は障壁より面積が実質的に小さく、したがって液体はその開口を通してのみクロマトグラフィーメジウムに入ることができ；クロマトグラフィーメジウム、吸収体、障壁及び開口は、検出ゾーンが開口とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間に位置するように配置される障壁と；

(v) 障壁に隣接し、対被検体－特異的結合パートナーを固定して含む親和性膜；とからなる第1対置成分と；

(b) アプリケータを含む第2対置成分であって、アプリケータは被検体同族体を、そのアプリケータへの水性液体の添加によって再溶解できる形で含み、その被検体同族体はその被検体に対する親和性の欠けている特異的結合対の1メンバーと共有結合した被検体を含み、その被検体同族体は検出可能の標識で標識されている上記第2対置成分とからなり、第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させるときアプリケータはその親和性膜と作動接触するように配置される検定装置。

56. 検出可能標識が目で検出できる標識である請求の範囲第55項記載の検定装置。

57. 圧によって液体が開口からクロマトグラフィーメジウムに入りやすくなるように第1及び第2対置成分を対置させることができる請求の範囲第55項記載の検定装置。

58. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって、

- (a) サンプルを請求の範囲第55項記載の検定装置のアプリケータに供給し；
- (b) そのサンプルをしてアプリケータ中の被検体同族体を再溶解せしめ、アプリケータ中に試験サンプルと再溶解した標識被検体同族体との溶液を生成せしめ；
- (c) アプリケータの第1及び第2対置成分を対置させて、試験サンプルと再溶解した被検体同族体とを含む溶液がアプリケータから親和性膜に移行するようにし；
- (d) 試験サンプルと再溶解した被検体同族体とを含む溶液を親和性膜を通過させ、その後その溶液は障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに入り、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れ；
- (e) 検出ゾーンに結合した標識被検体同族体を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなり、結合した標識被検体同族体の量を試験サンプル中の被検体の濃度と直接相関づける方法。

59. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって：

- (a) 下記のものからなる第1対置成分：
  - (i) 第1端部及び第2端部、第1及び第2面を有し、離れた、重ならない次のゾーンを固定して含むクロマトグラフィーメジウムであって；

(A) 対被検体—特異的結合パートナーの検出ゾーン；

(B) 被検体またはその同族体のコントロールゾーン；検出ゾーンはクロマトグラフィーメジウムの両端部から離れた1点とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間に位置し、コントロールゾーンはクロマトグラフィーメジウムの両端部から離れた点とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間に位置するクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触する吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さい、クロマトグラフィーメジウムの両端部から離

---

れた点に位置する第1適用領域を有する第1の実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも部分的に阻止する障壁と；

(iv) 第1障壁に隣接し、対被検体—標識特異的結合パートナーをそのアプリケーションタへの水性液体添加によって再溶解できる形で含むアプリケーションタであって、クロマトグラフィーメジウムの第1適用領域に液体を供給できる位置に置かれたアプリケーションタと；

(v) アプリケーションタに隣接し、アプリケーションタへの液体の供給を少なくとも一部は阻止し、クロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さい面積の、クロマトグラフィーメジウムの第1端部よりもクロマトグラフィーメジウムの第2端部により近い位置にある第2の適用領域を介してアプリケーションタに液体を供給できるような位置に置かれた第2の実質上液体不透過性障壁；及び

(b) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分とからなり、第1及び第2成分を対置させるとき、サンプル調製ゾーンは第2障壁及び第2適用領域と接触し、サンプル調製ゾーンのサンプルが第2適用領域を介してアプリケーションタに供給され、実質的にアプリケーションタの全長を移動し、サンプル及び再溶解した標識特異的結合パートナーを第1適用領域を介してクロマトグラフィーメジウムに供給するように第1及び第2対置成分が配置される検定装置。

60. サンプル調製ゾーンがサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含む請求の範囲第59項記載の検定装置。

61. 検出可能標識が目で検出できる標識である請求の範囲第59項記載の検定装置。

62. 圧によって、サンプルが開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなるように第1及び第2対置成分を対置させることができる請求の範囲第59項記載の検定装置。

63. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって；

(a) 試験サンプルを請求の範囲第59項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) 第1及び第2対置成分を対置させて、試験サンプルを第2供給領域からアプリータに移行させ；

(c) アプリータに移行したサンプルによって、アプリータ中の標識特異的結合パートナーを再溶解させて、サンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーを含む溶液を形成せしめ；

(d) サンプル及び再溶解した標識特異的結合パートナーを含む溶液をクロマトグラフィーメジウムに導入し、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンとコントロールゾーンとを含む部分を通して流れさせ；

(e) 検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

64. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって、

(a) 試験サンプルを請求の範囲第60項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) 試験サンプルをインキュベートしてサンプル処理のための少なくとも1つの試薬をサンプルと反応させて処理サンプルを生成せしめ；

(c) 第1及び第2対置成分を対置させて、処理サンプルを第2供給領域からアプリータに移行せしめ；

(d) アプリケータに移行した処理サンプルによって、アプリケータ中の標識特異的結合パートナーを再溶解せしめ、サンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーとを含む溶液を形成せしめ；

(e) 処理サンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーを含む溶液をクロマトグラフィーメジウムに導入し、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンとコントロールゾーンとを含む部分を通して流し；

(f) 検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

65. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって；

(a) (i) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有するクロマトグラ

---

フィーメジウムであって、被検体を含む水性溶液から被検体をクロマトグラフィーメジウムに固定するのに十分な対被検体親和性を有するクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するアプリケータであって、対被検体－標識特異的結合パートナーを、そのアプリケータへの水性液体の添加によって再溶解し得る形で含むアプリケータと、

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する1吸収体と；

(iv) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも部分的に阻止する障壁；とを含んでなる第1対置成分と；

(b) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分とからなり、第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させるときサンプル調製ゾーンは障壁と接触し、サンプル調製ゾーンのサンプルがクロマトグラフィーメジウムに供給され、試験サンプル中の被検体がクロマトグラフィーメジウムの少なくとも開口の近くに固定されるように配置される検定装置。

66. 検出可能標識が目で検出できる標識である請求の範囲第65項記載の検定装置。

67. クロマトグラフィーメジウムがナイロンである請求の範囲第65項記載の検定装置。

68. 抗原がリポ多糖である請求の範囲第65項記載の検定装置。

69. サンプル調製ゾーンが被検体処理のための少なくとも1つの試薬を含む請求の範囲第65項記載の検定装置。

70. 圧によってサンプルが開口を介してクロマトグラフィーメジウムへ供給されやすくなるように、第1及び第2対置成分を対置することができる請求の範囲第65項記載の検定装置。

71. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって、

(a) 請求の範囲第65項記載の検定装置のアプリケーションに水性液体を供給して標識特異的結合パートナーを再溶解し；

(b) 試験サンプルをサンプル調製ゾーンに供給し；

(c) 第1及び第2対置成分を対置させて、試験サンプルを障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給し；

(d) (i) 被検体がクロマトグラフィーメジウムの少なくとも開口の近くに結合することができるようにし、(ii) 再溶解した標識特異的結合パートナーが第1端部から第2端部へクロマトグラフィーメジウム上を移動し、標識特異的結合パートナーがクロマトグラフィーメジウムに結合した被検体と反応できるようにし；

(e) クロマトグラフィーメジウムに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

72. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する検定装置であって、

(a) (i) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに固定された特異的結合パートナーを含むクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するサンプル調製ゾーンと；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する第1吸収体と；

(iv) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも部分的に阻止する上記障壁；とを含んでなる第1対置成分と；

(b) (i) 対被検体一標識特異的結合パートナーを、そのアプリータへの水性液体の添加によって再溶解し得る形で含むアプリータであって、第1及び第2対置成分を対置させるとき、そのアプリータは障壁と接触し、再溶解した標識特異的結合パートナーが障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されるように配置されたアプリータと；

(ii) 第1及び第2対置成分を対置させるとき第2及び第3の吸収体がクロマトグラフィーメジウムの2部分と作動接触して第2及び第3吸収体がクロマトグラ

フィーメジウムから液体を取り出すように配置された第2及び第3吸収体；を含んでなる第2対置成分とからなる検定装置。

73. 標識が目で検出できる標識である請求の範囲第72項記載の検定装置。

74. サンプル調製ゾーンがサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含む請求の範囲第72項記載の検定装置。

75. クロマトグラフィーメジウムが検出ゾーンと重ならない領域に被検体及びその同族体を固定して含むコントロールゾーンをさらに含み、検出ゾーンは開口とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間にあり、コントロールゾーンは開口とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間にある請求の範囲第72項記載の検定装置。

76. 圧によって、再溶解した標識特異的結合パートナーが開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなるように、第1及び第2対置成分を

対置させることができる請求の範囲第72項記載の検定装置。

77. 試験サンプル中の被検体の検出及び／または決定のための試験キットであって、

別々の容器に、(a) 請求の範囲第72項記載の検定装置及び(b) アプリケータ中の標識特異的結合パートナーを再溶解するための水性液体を含んでなる試験キット。

78. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって、

(a) サンプルを請求の範囲第72項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) サンプルをクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を流れさせ；

(c) 水性液体をアプリケータに加えて、対被検体-標識特異的結合パートナーを再溶解し；

(d) 第1及び第2対置成分を対置させて標識特異的結合パートナーを障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2及び第3吸収体をクロマトグラフィーメジウムと作動接触させて液体をそこから引き出し；

(e) 再溶解した標識特異的結合パートナーをクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ、もしも被検体が試験サンプル中に存在するならば検出ゾーンに標識特異的結合パートナーを含む3成分コンプレックスを生成せしめ；

(f) 検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

79. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) サンプルを請求の範囲第74項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) サンプルをサンプル調製ゾーンにおいてインキュベートし、サンプル処



理のための少なくとも1つの試薬をサンプルと反応させて処理サンプルを生成せしめ；

(c) 処理サンプルをクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ；

(d) 水性液体をアプリケーションタに加えて対被検体-標識特異的結合パートナーを再溶解し；

(e) 第1及び第2対置成分を対置させて、再溶解した標識特異的結合パートナーを障壁の開口からクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2及び第3吸収体をクロマトグラフィーメジウムと作動接触させて液体をそこから引き出し；

(f) 再溶解した標識特異的結合パートナーをクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ、もしも被検体が試験サンプル中に存在するならば、検出ゾーンに標識特異的結合パートナーを含めた3成分コンプレックスを形成せしめ；

(g) 検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

80. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって、

(a) (i) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに固定された特異的結合パートナーを含むクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するコンダクタと

；

(iv) 金ゾルで標識した対被検体-特異的結合パートナーを、結合ゾーンへの水性液体の添加によって再溶解できる形で含む結合ゾーンであって、コンダクタと直接接触し、クロマトグラフィーメジウムの第1端部と間接的に接触する結合ゾーンと；

(v) 試験サンプルを供給するためのサンプル調製ゾーンであって、サンプル

調製ゾーンは結合ゾーンと直接接触し、結合ゾーンがサンプル調製ゾーンとコンダクタとを架橋するように配置されるサンプル調製ゾーンと；

(vi) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体供給を少なくとも部分的に阻止する障壁；とを含んでなる第1対置成分と；

(b) (i) アプリケーターへの水性液体の添加によって再溶解し得る形で(1)可溶性銀塩と(2)還元剤とを含むアプリケーターであって、第1及び第2成分を対置させるときアプリケーターは障壁と接触し、再溶解した銀塩及び還元剤が障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウム供給されるアプリケーターと；

(ii) 第1及び第2対置成分を対置させるとき、第2吸収体と第3吸収体はクロマトグラフィーメジウムの2部分に作動接触し、その結果第2及び第3吸収体はクロマトグラフィーメジウムから液体を取り出すように配置された第2及び第3吸収体；を含んでなる第2対置成分とからなる検定装置。

81. サンプル調製ゾーンがサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含む請求の範囲第80項記載の検定装置。

82. 可溶性銀塩が乳酸銀で、還元剤がキノンである請求の範囲第80項記載の検定装置。

83. 圧によって、可溶性銀塩と還元剤とが開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなるように、第1及び第2対置成分を対置させること

ができる請求の範囲第80項記載の検定装置。

84. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) サンプルを請求の範囲第80項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) サンプルを結合ゾーンを通して流れさせ、結合ゾーンの標識結合パートナーを再溶解させ；

(c) サンプル及び再溶解した標識特異的結合パートナーをコンダクタを通し

てクロマトグラフィーメジウムに導入し、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ；

(d) 水性液体をアプリータに加えて可溶性銀塩及び還元剤を再溶解し；

(e) 第1及び第2対置成分を対置させて再溶解した銀塩及び還元剤を障壁の開口から加えてメジウムに供給し、第2及び第3吸収体をクロマトグラフィーメジウムと作動接触させてクロマトグラフィーメジウムから液体を引き出し；

(f) 再溶解した銀塩及び還元剤をクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ、銀が、検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーの金標識の金の周囲に沈着するようにし、標識によって発生する信号を増強し；

(g) 検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

85. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) サンプルを請求の範囲第81項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) サンプル処理のための少なくとも1つの試薬がサンプルと反応するようにサンプルとサンプル調製ゾーンをインキュベートし、処理サンプルを生成せしめ；

(c) 処理サンプルを結合ゾーンを通して流れさせ、結合ゾーンの標識特異的結合パートナーを再溶解し；

(d) 処理サンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーとをコンダクタを通してクロマトグラフィーメジウムに導入し、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ；

(e) 水性液体をアプリータに加えて、可溶性銀塩と還元剤とを再溶解し；

(f) 第1及び第2対置成分を対置させ、再溶解した銀塩と還元剤とを障壁の開口を介して加えてクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2及び第3吸収体を加えてクロマトグラフィーメジウムと作動接触させ、クロマトグラフィーメジ

ウムから液体を引き出し；

(g) 再溶解した銀塩と還元剤とをクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ、銀が、検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーの金標識の金の周囲に沈着して、その標識によって発生する信号が増強するようにし；

(h) 検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

86. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって、

(a) (i) 第1端部及び第2端部、及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに固定された対被検体-特異的結合パートナーを有するクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するコンダクタと；

(iv) 金ゾルで標識化した対被検体-特異的結合パートナーを、結合ゾーンへの水性液体の添加によって再溶解できる形で含む結合ゾーンであって、コンダクタと直接接触し、クロマトグラフィーメジウムの第1端部と間接的に接触する結合ゾーンと；

(v) 試験サンプルの供給のためのサンプル調製ゾーンであって、サンプル供給ゾーンは結合ゾーンと直接接触し、コンダクタと結合ゾーンとサンプル調製

ゾーンは、結合ゾーンがサンプル調製ゾーンとコンダクタとを架橋するように配置されるサンプル調製ゾーンと；

(vi) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、その障壁は液体のクロマトグラフィーメジウムへの供給を少なくとも部分的に阻止する上記障壁；とを含んでなる第1対置成分と；

(b) (i) 2領域、すなわち(A)水性液体を受け取る第1領域と(B)アプリケーションの第2領域への水性液体の添加によって再溶解できる形で(1)可溶性銀塩と(2)還元剤とを含む第2領域を含むアプリケーションであって、そのアプリケーションは、第1及び第2対置成分を対置させるとき、アプリケーションの第1領域が障壁の開口と直接接触し、アプリケーションの第2領域がその開口と間接的に接触して、水性液体が先ず最初にクロマトグラフィーメジウムに供給されて洗浄を行い、その後水性銀塩及び還元剤が供給されるアプリケーションと、

(ii) 第1及び第2対置成分を対置させるとき、第2吸収体がクロマトグラフィーメジウムの、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間の部分と作動接触し、第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムの、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間の部分と作動接触して、第2及び第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムから液体を取り出すように置かれた第2及び第3吸収体とを含んでなる第2対置成分とからなる検定装置。

87. サンプル調製ゾーンがサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含む請求の範囲第86項記載の検定装置。

88. 可溶性銀塩が乳酸銀で、還元剤がキノンである請求の範囲第86項記載の検定装置。

89. 圧によって、液体が開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなるように、第1及び第2対置成分を対置させることができる請求の範囲第86項記載の検定装置。

90. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって、

(a) サンプルを請求の範囲第86項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) サンプルを結合ゾーンを通して流れさせ、結合ゾーンの標識特異的結合パートナーを再溶解せしめ；

(c) サンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーとをコンダクタを通してクロマトグラフィーメジウムに流入させ、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ；

(d) 水性液体をアプリケータの第1及び第2領域に加えて、アプリケータの第2領域の可溶性銀塩と還元剤とを再溶解し；

(e) 第1及び第2対置成分を対置させ、アプリケータの第1領域の水性液体を開口を通してクロマトグラフィーメジウムに洗浄液として供給し、第2及び第3吸収体をクロマトグラフィーメジウムと作動接触させてクロマトグラフィーメジウムから液体を引き出し；

(f) 再溶解した銀塩と還元剤とをクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ、銀が、検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーの金標識の金の周囲に沈着して、その標識によって発生する信号が増強するようにし；

(g) 検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

91. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) サンプルを請求の範囲第87項記載の検定装置のサンプル調製ゾーンに供給し；

(b) サンプルを処理するための少なくとも1つの試薬がサンプルと反応できるようにサンプルをサンプル調製ゾーンにおいてインキュベートし、処理サンプルを生成し、

(c) 処理サンプルを結合ゾーンを通して流れさせ、結合ゾーンの標識特異的結合パートナーを再溶解し；

(d) 処理サンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーとをコンダクタを介してクロマトグラフィーメジウムに流入させ、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ；

(e) 水性液体をアプリケータの第1及び第2領域に加え、アプリケータの第2領域の可溶性銀塩及び還元剤を再溶解させ、

(f) 第1及び第2対置成分を対置させてアプリケータの第1領域の水性液体

を開口を介してクロマトグラフィーメジウムに洗浄液として供給し、その後再溶解した銀塩と還元剤とをクロマトグラフィーメジウムに供給し、第1及び第2対置成分をクロマトグラフィーメジウムと作動接触させてクロマトグラフィーメジウムから液体を引き出し；

(g) 再溶解した銀塩と還元剤とをクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ、銀が、検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーの金標識の金の周囲に沈着し、その標識によって発生する信号が増強するようにし、

(h) 検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

---

## 92. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する検定装置であって

(a) (i) (A) 第1端部、第2端部、及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに固定された対被検体-特異的結合パートナーを有するクロマトグラフィーメジウムと；

(B) 金ゾルで標識化した対被検体-特異的結合パートナーを、結合ゾーンへの水性液体添加によって再溶解できる形で含む結合ゾーンであって、クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触している結合ゾーンと；

(C) 結合ゾーンと作動接触するコンダクタであって、クロマトグラフィーメジウムの第1端部とそのコンダクタとを結合ゾーンが架橋するコンダクタと；

(D) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィー面に液体を供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも一部は阻止する障壁とを含む

第1対置成分；

(ii) (A) 試験サンプルを含むスワブのための第1収容部と；

(B) スワブに少なくとも1つの試薬を添加するためのウェルと；

(C) 収容部及びウェルから離れた第1吸収体とを含む第2対置成分；及び

(iii) インサート及び第1及び第2対置成分の面の相対的動きに対してインサートを安定に保持するための第2の収容部を含んでなるベースパネルであって、ベースパネルの第1及び第2対置成分を対置させるとき、第1吸収体はクロマトグラフィーメジウムの1部と接触し、収容部はコンダクタと接触するように、第1及び第2対置成分が配置されるベースパネルと；

(b) (i) アプリケータへの水性液体の添加によって再溶解できる形で (1) 可溶性銀塩と (2) 還元剤とを含むアプリケータと；

(ii) 第2吸収体と；

(iii) 第3吸収体と；

(iv) ベースパネルの第2収容部に挿入するための突出部とを含んでなり、突出部をベースパネルの第2収容部に挿入するとき、アプリケータは開口と作動接触してアプリケータの内容物を開口からクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2及び第3吸収体は各々クロマトグラフィーメジウムの部分と作動接触し、クロマトグラフィーメジウムから液体を引き出すように配置されるインサートからなる検定装置。

93. 可溶性銀塩が乳酸銀で、還元剤がキノンである請求の範囲第92項記載の検定装置。

94. 圧によって、液体が開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなるように第1及び第2対置成分を対置させることができる請求の範囲第92項記載の検定装置。

95. 水性試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって

(a) 試験サンプルを含むスワブを請求の範囲第92項記載の検定装置の第1収容部に置き；

(b) 少なくとも1つの抽出試薬をウェルに入れてスワブから被検体を抽出し；

(c) 第1及び第2対置成分を対置させて、収容部のスワブがコンダクタと接触し、抽出された被検体をコンダクタに与え、第1吸収体がクロマトグラフィー



メジウムの部分と接触するようにし；

(d) 抽出済みサンプルを結合ゾーンを通して流れさせ、結合ゾーンにある標識特異的結合パートナーを再溶解し；

(e) 抽出済みサンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーをクロマトグラフィーメジウムに流入させ、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含めた部分の流れさせ；

(f) 水性液体をインサートのアプリータに加えて可溶性銀塩及び還元剤を再溶解し；

(g) インサートの突出部をベースパネルの第2收容部に挿入し、アプリータが障壁の開口と接触して、アプリータの内容物を開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2及び第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムと接触してクロマトグラフィーメジウムから液体を引き出すようにインサートを配置し、

(h) 再溶解した銀塩と還元剤とをクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ、銀が、検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーの金標識の金の周囲に沈着し、その標識によって発生する信号が増強するようにし、

(i) 検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

96. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって、

(a) (i) 下記のものを含む第1対置成分；

(A) 第1端部、第2端部、及び第1及び第2面を有し、クロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さい検出ゾーンに固定された対被検体-特異的結合パートナーを有するクロマトグラフィーメジウムと；

(B) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するコンダクタと；

(C) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメ

ジウムに液体を供給するための開口を有し、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも1部は阻止する実質上液体不透過性障壁と；

(ii) 第1吸収体を含む第2対置成分であって、第1及び第2対置成分を対置させるとき第1吸収体がクロマトグラフィーメジウムの1部と作動接触するように第1及び第2対置成分が配置されており、

(iii) インサート及び第1及び第2対置成分の面の相対的動きに対してインサートを安定に保持するための収容部とを含んでなるベースパネルと；

(b) (i) 対被検体-特異的結合パートナーに結合している酵素標識のための基質を、アプリケーションに水性液体を添加すると再溶解できる形で含むアプリケーションであって、その酵素標識はその基質を含める反応を触媒することによって不溶性の検出可能生成物を生成するアプリケーションと；

(ii) 第2吸収体と；

(iii) 第3吸収体と；

(iv) ベースパネルの収容部に挿入するための突出部とを含むインサートであって、突出部がベースパネルの収容部に挿入されるとき、アプリケーションは開口と作動接触してアプリケーションの内容物を開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2及び第3吸収体が各々クロマトグラフィーメジウムの部分に作動接触し、クロマトグラフィーメジウムから液体を引き出すように配置されるインサートからなる検定装置。

97. 圧によって、アプリケーションの内容物が開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなるように第1及び第2対置成分を対置することができる請求の範囲第96項記載の検定装置。

98. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって、

(a) 水性試験サンプルに対被検体-標識特異的結合パートナーを加えてサンプル-標識溶液を作り、その際標識特異的結合パートナーの標識は、不溶性検出可能生成物を生産する反応を触媒する酵素であり；

(b) そのサンプル-標識溶液を請求の範囲第96項記載の検定装置のコンダ

クタに供給し；

(c) 第1及び第2対置成分を対置させて、第1吸収体をクロマトグラフィーメジウムの1部と作動接触させ；

(d) サンプル-標識溶液をクロマトグラフィーメジウムに流入させ、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を流れさせ；

(e) 水性液体をインサートのアプリータに加えて基質を再溶解し；

(f) インサートの突出部をベースパネルの収容部に挿入し、アプリータが障壁の開口に接触してアプリータの内容物を開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2及び第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムと接触するように置かれ、クロマトグラフィーメジウムから液体を引き出すようにインサートが配置され；

(h) 信号として沈着した不溶性生成物に基づき、検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中に被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

99. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための検定装置であって、

(a) (i) (A) 第1端部、第2端部、及び第1及び第2面を有し、検出ゾーンに固定された対被検体-特異的結合パートナーを含むクロマトグラフィーメジウムと；

(B) 酵素で標識化した対被検体-特異的結合パートナーを、結合ゾーンへの水性液体の添加によって再溶解できる形で含む結合ゾーンであって、クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触する結合ゾーンと；

(C) 結合ゾーンと作動接触するコンダクタであって、結合ゾーンがクロマトグラフィーメジウムの第1端部とそのコンダクタとを架橋するコンダクタと；

(D) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも1部は阻止する障壁とを含む第1対置成分と；

(ii) (A) 試験サンプルを含むスワブのための第1収容部と；

(B) 少なくとも1つの抽出試薬をスワブに加えるためのウェルと；

(C) ウェル内で収容部から（上記収容部及びウェルから）離れた第1吸収体；とを含んでなる第2対置成分と；

(iii) インサート及び第1及び第2対置成分の面の相対的動きに抗してインサートを安定に保つための第2収容部とからなるベースパネルであって、第1及び第2対置成分を対置させるとき第1吸収体がクロマトグラフィーメジウムの1部と接触し、収容部がコンダクタと接触するように第1及び第2成分が配置されるベースパネルと；

(b) (i) 対被検体－特異的結合パートナーに結合する酵素標識のための基質を、アプリケーションタへの水性液体の添加によって再溶解し得る形で含むアプリケーションタであって、その酵素標識はその基質を含めた反応を触媒することによって不溶性の検出可能生成物を生産するアプリケーションタと；

(ii) 第2吸収体と；

(iii) 第3吸収体と；

(iv) ベースパネルの第2収容部に挿入するための突出部とを含んでなるインサートであって、突出部がベースパネルの第2収容部に挿入されるとき、アプリケーションタは開口と作動接触してアプリケーションタの内容物を開口からクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2及び第3吸収体は各々クロマトグラフィーメジウムの部分と作動接触し、クロマトグラフィーメジウムから液体を引き出すように突出部が配置されているインサート；とからなる検定装置。

100. 圧によって、アプリケーションタの内容物が開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなるように、第1及び第2対置成分を対置させることができる請求の範囲第99項記載の検定装置。

101. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する方法であって、

(a) 試験サンプルを含むスワブを請求の範囲第99項記載の検定装置の第1収容部に置き；

(b) 少なくとも1つの抽出試薬をウェルに供給してスワブから被検体を抽出し；

(c) 第1及び第2対置成分を対置させて、第1収容部のスワブがコンダクタ

と接触して抽出被検体をコンダクタに与え、第1吸収体がクロマトグラフィーメジウムの1部と接触するようにし；

(d) 抽出済みサンプルを結合ゾーンを通して流れさせ、結合ゾーンにある標識特異的結合パートナーを再溶解させ；

(e) 抽出済みサンプル及び再溶解した標識特異的結合パートナーをクロマトグラフィーメジウムに流入させ、クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分の流れさせ；

(f) 水性液体をインサートのアプリータに加えて基質を再溶解し；

(g) インサートの突出部をベースパネルの第2收容部に挿入し、アプリータが開口及び障壁と接触して、アプリータの内容物を開口を介してメジウムに供給し、第2及び第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムと接触してクロマトグラフィーメジウムから液体を引き出すようにインサートを配置し；

(h) 再溶解した基質をクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ、酵素標識の酵素がその基質を含めた反応を触媒するようにし、標識の信号である不溶性生成物を沈着させ；

(i) 信号として沈着した不溶性生成物によって、検出ゾーンに結合した標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法。

102. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する検定装置であって；

(a) (i) 第1端部、第2端部、及び第1及び第2面を有し、そこに固定された対被検体-特異的結合パートナーを含むクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの両端部の1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための第1開口を有する第1の実質上液体不透過性障壁と；

(iv) 第1の実質上液体不透過性障壁に隣接し、液体を第1の実質上液体不透過

過性障壁の第1開口に導く分配膜と；

(v) 分配膜の中心部分に隣接する第2の実質上液体不透過性障壁と；

(vi) 对被検体-標識特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含むアプリケータであって、液体がアプリケータから第2障壁の周囲を通過して、分配膜の、第2の実質上液体不透過性障壁が直接隣接していない部分に流れることができるように、障壁膜に隣接して配置されたアプリケータと；

(vii) 液体をアプリケータに供給するための第2開口を含む表面障壁を含んでなる第1対置成分と；

(b) 試験サンプルを含むスワブのための収容部を含んでなる第2対置成分からなる検定装置。

103. 標識特異的結合パートナーの標識が目検出できる標識である請求の範囲第102項記載の検定装置。

104. 圧によって、液体が開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されやすくなるように第1及び第2対置成分を対置させることができる請求の範囲第102項記載の検定装置。

105. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための試験キットであって、別々の容器に：

(a) 請求の範囲第104項記載の検定装置；及び

(b) スワブから被検体を抽出するための少なくとも1つの試薬を含んでなる試験キット。

106. 試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定するための方法であって、

(a) 試験サンプルを含むスワブを請求の範囲第104項記載の検定装置の収容部に置き；

(b) 少なくとも1つの抽出試薬を収容部のスワブに供給して、スワブから被検体を抽出し；

(c) 第1及び第2対置成分を対置させ、抽出した被検体は表面障壁の第2開口に供給され、第2障壁の周囲を通過し、分配膜を通過した後にアプリケータ及びクロマトグラフィー供給され、その結果アプリケータにある標識特異的結合パート

ナーは再溶解され；

(d) サンプル及び再溶解した対被検体－標識特異的結合パートナーをクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を通して流れさせ；

(e) 検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる方法

。

---

## 【発明の詳細な説明】

## 試薬供給を調節する障壁を有する検定装置

## 目録

便宜上、次の目録を提供する：

発明の背景

概要

図の簡単な説明

説明

定義

## I. 障壁によって調節する検定装置

## A. 方法の原理

## B. 本発明による装置に共通の要素

1. クロマトグラフィーメジウム
2. 吸収体
3. その他の液体運搬要素
4. フィルター
5. 対置成分
6. 実質上液体不透過性障壁
7. 標識化成分

## C. 垂直／横方向フローを利用する検定装置

1. 垂直／横方向フローを利用する基礎的検定装置
2. 障壁に隣接するアプリータを有する1成分検定装置
3. 第1対置成分上にアプリータを有する2成分装置
4. 第2対置成分上にアプリータを有する2成分装置
5. 微粒子を除去するためのフィルターを有する装置

a. 再溶解した標識特異的結合パートナーの導入後の液体通路にフィルターを有する装置

b. 再溶解した標識特異的結合パートナーの導入前の液体通路にフィルターを有する装置



6. スワブの抽出のための装置

7. 競合的イムノアッセイ装置

D. 異方性フロー装置

E. 被検体のクロマトグラフィーメジウムへの直接吸収を利用する装置

II. 連続免疫クロマトグラフィー

III. 増幅免疫クロマトグラフィー

A. 銀増幅の原理

B. 銀増幅を利用する装置

1. 第2対置成分上のアプリケータに銀塩を挿入する装置

2. 洗浄のための2領域アプリケータを有する装置

3. ベースパネル及びインサートを有する装置

IV. 酵素免疫クロマトグラフィー

A. 酵素標識の原理

1. 酵素及び基質の選択

2. 酵素を特異的結合対のメンバーにカップリング

B. 酵素免疫クロマトグラフィーに適した装置

例1 — ギアルディア (Giardia) 陰性サンプルでは反応がないことを示す例

例2 — ギアルディア 陽性検出を示す実験

例3 — ストレプトコッカスA (Streptococcus A) の検定装置

例4 — 酵素免疫クロマトグラフィー装置

発明の利点

#### 発明の背景

本発明はサンプルの特性の決定のための試験装置、使用ハウジング、及び試験装置及びハウジングを含むキット、及びその試験装置及びハウジングを用いてサンプル特性を決定する方法に関するものである。

被検体、特に生物学的関心とする被検体の検出及び／または測定に用いられる多くの分析装置のなかにクロマトグラフィー検定装置がある。このような装置で検定されることが多い被検体のなかには：

(1) ヒト妊娠のマーカーとしてしばしば検査される例えばヒト絨毛膜ゴナドトロピン (hCG) などのホルモン類；

(2) 抗原類、特に細菌、ウィルス及び原虫類病原体、例えばストレプトコッカス (Streptococcus)、肝炎ウィルス及びギアルディアなどに特異的な抗原類

(3) 抗体類、特に病原体感染の結果生成する抗体類、例えば細菌、ピロリ菌 (Helicobacter pylori) に対する抗体及びヒト免疫不全ウィルス (HIV) 抗体など；

(4) その他の蛋白質類、例えば結腸癌のような胃腸障害の早期指標として例えば糞便潜血の確認のためによく検査されるヘモグロビンのような蛋白質類；

(5) 生理的機能及び組織損傷の指標として測定することが多い、例えばアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、乳酸脱水素酵素、アルカリホスファターゼ及びグルタミン酸脱水素酵素などの酵素類；

(6) 薬物類；例えば抗生物質、精神安定剤及び抗けいれん剤などの治療薬も、例えばコカイン、ヘロイン及びマリファナなどの不法濫用薬物も両方とも；

(7) 環境汚染物質類、例えば農薬や芳香族炭水化物など；

(8) ビタミン類。

このようなクロマトグラフィー装置は医者や医学的技術者たちが種々の病気及び障害を診察室で速やかに診断し、治療的にモニターするためによく使われる。また、患者たちがこのような病気及び障害を家で自分でモニターするためにもますます使われるようになってきた。

このような装置の最も重要なものは、溶媒が薄い平らな吸収メジウムを移動する“薄層”システムである。このような薄層システムで行われる最も重要な試験

にはイムノアッセイがある；これは抗原またはハプテンと、対応する抗体との特異的相互作用に依存する。臨床的重要な分子の存在及び／または量を試験する手段としてのイムノアッセイの利用はしばらく前から公知である。1956年にすでにシンガー (J. M. Singer) は、リウマチ性関節炎に関連する因子を検出するために免疫に基づくラテックス凝集試験を使用したことを報告した (シンガーら、Am. J. Med. 22巻、888-892ページ、1956)。

イムノアッセイと組合わせて用いるクロマトグラフィー法には免疫クロマトグラフィーとして知られる方法がある。概してこの方法は、検定すべき分子に対する抗体に結合して結合体 (conjugate) を形成する発現試薬、または一微粒子を用いる。この結合体をその後試料と混合し、もし検定すべき分子がその試料中に存在する場合は発現試薬結合抗体が検定すべき分子に結合し、それによって検定すべき分子の存在を示す指標を与える。その発現試薬または粒子は色、磁性、放射能、他の分子との特異的反応性、またはその他の物理的または化学的特性によって確認できる。利用する種々の特異的反応は検定すべき分子及び試験すべき試料の性質によって変化する。

免疫クロマトグラフィー検定は、検出すべき抗原-抗体コンプレックス、及びそのコンプレックスを生成するために必要な反応の順序によって、“サンドイッチ” 及び“競合的” の2つの主要カテゴリーに分けられる。例えばピロリ菌特異的抗体の血清学的検定におけるように、検出すべき抗原がそれ自体抗体となり得る。このような場合には検出すべき抗体は特異的抗原に結合し得る。それとは別に、検出すべき被検体に対する第1の抗体に結合する標識第2抗体を用いることによって、検出すべき抗原を間接的に検出することができる。

概してサンドイッチ免疫クロマトグラフィー法では、検出すべき被検体を含むと思われるサンプルをその被検体に対する抗体と共に混合することが必要である。これらの抗体は可動性で普通は標識または発現試薬、例えば着色ラテックス、コロイド金属ゾル、または放射性同位元素などに結合する。この混合物を、関心とする被検体に対する固定抗体バンドまたはゾーンを含むクロマトグラフメジウムに供給する。クロマトグラフィーメジウムは計量棒に似た細長い小片の形をとるのが普通である。検定すべき分子と標識抗体とのコンプレックスがクロ

マトグラフィーメジウムに固定された抗体ゾーンに達したとき、結合が起き、結合した標識抗体はそのゾーンに集まる。これは検定すべき分子の存在を示す。この方法を用いて定量的または半定量的結果を得ることができる。

試験片で行われるサンドイッチイムノアッセイの例はグラッブ (Grubb) らの米国特許第4168146号及びトム (Tom) らの米国特許第4366241号

に記載されている；これらは両方共引例によってここに挿入される。

競合的イムノアッセイでは、標識は、抗体とサンプル中に存在する何らかの非標識被検体との結合に関して競合する標識被検体または一被検体同族体であるのが普通である。競合的イムノアッセイは普通はハプテンのような被検体の検出に用いられ、各ハプテンは1価で、1個の抗体分子のみに結合できる。競合的イムノアッセイ装置の例はドイツ (Deutsch) らの米国特許第4235601号、リオッタ (Liotta) らの米国特許第4442204号、及びビューッヘラー (Buechler) らの米国特許第5208535号に記載されているものである；これらすべては引例によってここに挿入される。

役立つとはいえ、現在使用できる試験片を用いるクロマトグラフィー法は多数の欠点を有する。多くのサンプル、例えば糞便サンプルなどはクロマトグラフィーメジウムの孔の目詰まりをおこし、免疫クロマトグラフィープロセスを著しく妨害する。その他のサンプル、例えば血液などは細胞及び有色成分を含み、そのため試験結果を読み取るのがむずかしい。たとえそのサンプルが妨害をおこさなくても、現存のクロマトグラフィー試験装置では、サンプル先端がクロマトグラフィーメジウムを一樣に移動し、結合が均質に、直線的に起きる場所まで確実に達するように、サンプルをクロマトグラフィーメジウムに供給するのは困難であることが多い。現在使用できる試験片では、検定すべきサンプルの性質または実施する検定の性質によってその他の諸問題がおきる。多くの現在使用できる試験片では、サンプルが供給地点から固相の特異的捕捉帯を通過するまでの通過時間があり、結果が出るまでに不都合な程時間がかかることがよくある。その上貴重なサンプル及び試薬が捕捉ゾーンへ行く通路で諸要素のデッド体積中に失われるかも知れない。その上現在使用できる免疫クロマトグラフィー試験片のデザインは酵素イムノアッセイの実施には不適當である、なぜならばこのようなデザ

インでは試験片に活性酵素のバックグラウンドが残り、それは基質を加えるときには試験片に濃いバックグラウンドを作り出し、被検体、特に低濃度の被検体の検出を妨害することがあるからである。

現在使用できるデザインでは、感受性を改良し、バックグラウンドを減少させ

るために所望されることが多い洗浄段階を行うことができない。またその装置内でプレインキュベーション段階を行うことはむずかしく、多くの場合不可能である。その上、試験片の固相として一般的に用いられる材料に強固に、非特異的に結合する多数の抗原、例えばクラミジアトラコマトリス (Chlamydia trachomatis) リポ多糖 (LPS) 抗原などに対して有効な検定が必要である。

免疫クロマトグラフィーの現在使用できる装置及び方法では、サンプル調製及び廃棄物発生がその他の問題をおこす。AIDS及び肝炎のように感染血液及び血液フラクシオンによる疾患の蔓延が、これらの問題を悪化させている。サンプル（例えば糞便）またはサンプリング器具（例えば喉綿棒など）を直接クロマトグラフィーメジウムに適用できることは稀である。サンプルをクロマトグラフィーメジウムに適用する前に、いくつかの抽出及び前処理反応が必要なのが普通である。これらの反応は試験を行う医者や技術者がピペットなどの移動手段を使わなければならない何らかの小さい容器、例えば試験管またはマイクロフュージ (microfuge) 管中で行うのが一般的である。これらの装置の各々はその後汚染を受け、ひょっとしてその廃棄物と接触するかも知れない研究者や人々が汚染されないように細心の注意をもって廃棄しなければならない。医者や技術者が使用する現在手に入るクロマトグラフィー装置のもう一つの制限は、それらが二方向—または二次元クロマトグラフィーを実施することができないことである。これらの方法は強力な分析手段であることは以前から知られていたが、簡単な一方向クロマトグラフィーと比較して複雑であるため、それらを医者の診療所または臨床的実験室において試験片装置に使用することはむづかしかったのである。

よって、広範囲のクロマトグラフィー検定を処理することのできる改良検定装置が必要である。このような装置はサンドイッチ及び競合的イムノアッセイ並びにクロマトグラフィーを用いるその他のタイプの諸検定を含むあらゆるタイプのイムノアッセイを処理できなければならない。このような装置は、抽出容器及び

運搬器具の必要性を排除するために、汚染の可能性のあるサンプル、またはサンプル調製手段を直接受け取ることができなければならない。好適には試験片の形のこのような手段は、着色サンプルまたは微粒子含有サンプルを用いて妨害なく

免疫クロマトグラフィー検定を実施することもでき、サンプルをクロマトグラフィーメジウムに均質に供給し、試験の正確さ及び精度を一様に改良することもできなければならない。その上、このような改良試験片は臨床検査室または医者の診療所で使用するとき、二方向—または二次元クロマトグラフィーを行うことができなければならない。その上、このような試験片は検定を実施する際に経験する時間遅れを最小にし、デッド容積も最小にしてサンプル及び試薬の使用に関する経済性を最大にしなければならない。最後にこのような改良試験片は酵素イムノアッセイではより低いバックグラウンドを与える筈である。

### 概要

私はこのような要求を満足する検定装置を開発した、そして生物学的関心とする被検体のための改良された、より再現性の高い検定を提供する。その装置はサンドイッチ イムノアッセイ及び競合的イムノアッセイを含むあらゆるタイプのイムノアッセイを実施することができる。その装置は、酵素活性によって、または金標識によって発生した信号を増幅するために銀を使用することによって、信号が増幅される増幅イムノアッセイを実施することもできる。この装置は、クロマトグラフィーメジウムに直接結合する例えばリポ多糖類のような被検体を検定するためにも使用することができる。

本発明による検定装置は1成分で構成することができるが、2つ以上の対置成分で構成するのがより好適である。2つ以上の対置成分で構成するとき、検定装置は圧を利用して液体を1対置成分から他の対置成分に移し、液体をクロマトグラフィーメジウム及び、例えばフィルターなどの要素から押し出す。圧の利用は装置の操作を速めるのみならず、その他の段階、例えば妨害微粒子状成分を除去する抽出段階などを1つの装置内で実施できるようにする。対置成分を係合部材と共に、各々の対置成分上の諸要素を連結させるように対置させることによって

圧を発生させる。好適には、検定操作の各段階の性能を確実に最適にするように、あらかじめ決めた量の圧をかける。

2つ以上の対置成分を有する装置はその他に試薬供給のためのインサートを組み込むことができる。この配列は増幅イムノアッセイを行う際に特に有用である

。その上、この装置は次のような他のタイプの特異的結合検定を実施することもできる：（１）特異的結合蛋白質類または糖蛋白質類、例えばレクチン、ホルモン受容体、またはウィルス受容体などのそれらの特異的リガンドに対する親和性に基づく検定；

（２）酵素類のそれらの対応する基質またはインヒビターに対する親和性に基づく検定；または

（３）ワトソン-クリック塩基対規則に準拠する、核酸（DNAまたはRNA）セグメントの相補的核酸セグメントに対する親和性に基づく検定。

基礎的１成分型では、サンドイッチ イムノアッセイの実施に適した本発明による装置は次のものからなる：

（１）第１端部と第２端部と、第１及び第２面とを有し、検出ゾーンに、固定された対被検体-特異的結合パートナーをもつクロマトグラフィーメジウムと；

（２）第１及び第２端部の少なくとも１つと作動接触する少なくとも１つの吸収体と；

（３）クロマトグラフィーメジウムの第１面に隣接する実質上液体不透過性障壁であって、その障壁はクロマトグラフィーメジウムに適用するための液体を通過させる少なくとも１つの開口を有し、その障壁はクロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも１部は阻止するという障壁。

クロマトグラフィーメジウム、吸収体、障壁及び開口は、障壁に供給される液体が少なくとも１つの吸収体によってクロマトグラフィーメジウムを通過して引っ張られ、被検体とその被検体の検出試薬とがクロマトグラフィーメジウム上の検出ゾーンに３成分コンプレックスを形成できるように配置される。

この装置は被検体を検出するための方法に用いられ、その方法は；（１）サンプルを被検体のための標識化検出試薬の水溶液と混合して、サンプルと標識化検

出試薬とを含む溶液を形成し；（２）サンプルと対被検体-標識化検出試薬とを含む溶液を検定装置の開口に供給し；（３）サンプルと対被検体-標識化検出試薬とを含む溶液をクロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーンを含む部分を

通って流れさせ；（４）検出ゾーンに結合した標識検出試薬を観察及び／または測定することによって試験サンプル中の被検体を検出及び／または決定する諸段階からなる。

同様な１成分装置は付加的要素、すなわち障壁に隣接するアプリータを含む。アプリータは、そのアプリータへの水性液体の添加によって再溶解し得る形で被検体のための標識検出試薬を含む。そのアプリータは、アプリータとクロマトグラフィーメジウムとの間に障壁がくるように配置され、またアプリータに供給されたサンプルが、特異的結合パートナーを再溶解化した後に開口から引き出され、その後少なくとも１つの吸収体によってクロマトグラフィーメジウムを通して移動し、被検体及び被検体の検出試薬がクロマトグラフィーメジウム上の検出ゾーンに３成分コンプレックスを形成できるように配置される。同様な作動原理が本発明によるその他の装置、１成分装置にも２成分装置にも応用できる。諸段階の順序は必要に応じて変えることができ、サンプル及びその他の試薬、例えば被検体のための標識特異的結合パートナーなどをクロマトグラフィーメジウムに供給し、そのメジウムを通して移動させることができる。

装置の基礎的２成分型は以下のものからなる：

（１）第１対置成分；これは

（ａ）第１端部と第２端部と第１及び第２面とを有し、クロマトグラフィーメジウムの検出ゾーンに固定した被検体の特異的結合パートナーを有するクロマトグラフィーメジウムと；

（ｂ）クロマトグラフィーメジウムの第１及び第２端部の少なくとも１つと作動接触する少なくとも１つの吸収体と

（ｃ）クロマトグラフィーメジウムの第１面に隣接する実質上液体不透過性の障壁であってクロマトグラフィーメジウムへの液体適用を少なくとも１部阻止する障壁とを含む；（２）少なくとも１つの反応体を開口部を介してクロマトグラフィーメジウムに直接的または間接的に供給する第２対置成分。第１及び第２対

置成分は、第１及び第２対置成分を対置させるとき、第２対置成分が少なくとも１つの反応体を開口を通して直接または間接的にクロマトグラフィーメジウムに



供給するように配置される。

このような2成分検定装置のより複雑な変形型は次のものからなる：(1) 第1対置成分；これは

(a) 第1端部、第2端部、及び第1及び第2面とを有し、メジウム上の検出ゾーンに固定された被検体の特異的結合パートナーをもつクロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接する実質上液体不透過性の障壁であって、液体をクロマトグラフィーメジウムに適用するための1開口部をもち、液体のクロマトグラフィーメジウムへの供給を少なくとも1部阻止する障壁と；

(d) アプリケータへの水性液体添加によって再溶解化できる形で被検体の標識検出試薬を含む、障壁に隣接するアプリケータ。

(2) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分。

障壁がアプリケータとクロマトグラフィーメジウムとの間に位置し、その障壁は、アプリケータに供給された水性液体が、検出試薬の再溶解化後に開口から引き出され、その後少なくとも1つの吸収体によってクロマトグラフィーメジウム上を引っ張られて移動し、被検体と標識検出試薬とがクロマトグラフィーメジウム上の検出ゾーンに3成分コンプレックスを形成できるように、アプリケータが配置される。第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させると、サンプル調製ゾーンがアプリケータと接触し、サンプル調製ゾーンのサンプルがアプリケータに入り、再溶解可能な形の検出試薬を再溶解し、クロマトグラフィーメジウム上を通してクロマトグラフィーが行われるように配置される。

同様な装置において、アプリケータは第2対置成分に移され、ここにサンプルが供給される。

本発明による2成分装置のもう一つの変形型は、微粒子を取り除くためのフィルターを第1対置成分上の実質上液体不透過性障壁に隣接して組み込み、被検体

のための再溶解可能の標識特異的結合パートナーを含むアプリケータも組み込む。別の配列ではアプリケータは第1対置成分に配置され、フィルターは第1対置成分に供給したサンプルがアプリケータに達する前にそのフィルターを通過するように置かれる。

装置のまた別の変形型では、アプリケータの第1部分に隣接する第2の実質上液体不透過性障壁と、この第2障壁に隣接しており、アプリケータの第2部分（第2障壁と隣接していない）と作動接触する分配膜とが配設され、液体は分配膜から第2障壁の回りを通してアプリケータに流れることができる。この変形型では第2対置成分は試験サンプルを含むスワブを入れる収容部を含む。

第2対置成分にスワブが収容されるように作られたまた別の変形装置において、第1対置成分は、第1の実質上液体不透過性障壁に隣接し、第1の実質上液体不透過性障壁の第1開口部に液体を導く分配膜と、この分配膜の中心部分に隣接する第2の実質上液体不透過性障壁と、对被検体一標識特異的結合パートナーを再溶解し得る形で含み、上記障壁膜に隣接し、液体がアプリケータから第2障壁の周囲を通り分配膜の1部、すなわち第2の実質上液体不透過性障壁と直接隣接していない分配膜部分に流れることができるように置かれたアプリケータと、液体をアプリケータに供給するための第2開口部を含む表面障壁とを含んでなる。

サンドイッチ イムノアッセイを実施するために適した本発明によるまた別の2成分装置変形型は異方性フローを利用する。この装置は次のものを含む：

(1) 下記を含む第1対置成分：

(a) 第1端部及び第2端部及び第1及び第2面を有し、メジウム上に個々に離れて固定された、重ならない次のような複数のゾーンを有するクロマトグラフィーメジウム：

(i) 对被検体一特異的結合パートナーの検出ゾーンと

(ii) 被検体またはその同族体のコントロール（対照）ゾーン；検出ゾーンはクロマトグラフィーメジウム端部から離れた点と、クロマトグラフィーメジウムの第1端部との間にあり、コントロールゾーンはクロマトグラフィーメジウムの端

部から離れた点とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間にある；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触する吸収体；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さい第1供給領域を有し、クロマトグラフィーメジウムの両端部から離れた地点に位置する第1の実質上液体不透過性障壁であって、この障壁はクロマトグラフィーメジウムへの液体供給を少なくとも1部は阻害する第1障壁；

(d) 第1障壁に隣接するアプリケータ；このアプリケータは対被検体一標識化特異的結合パートナーを、アプリケータへの水性液体添加によって再溶解できる形で含み、このアプリケータは液体をクロマトグラフィーメジウムの第1供給領域に供給するように配置される；

(e) アプリケータに隣接し、そのアプリケータへの液体供給を少なくとも1部阻止し、クロマトグラフィーメジウム面積より本質的に小さい第2供給領域を介して液体をアプリケータに供給せしめ、クロマトグラフィーメジウムの第1端部よりもクロマトグラフィーメジウムの第2端部により近く位置する第2の実質上不透過性障壁；

(2) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分。

この装置において、第1及び第2対置成分を対置させるとき、サンプル調製ゾーンが第2障壁及び第2供給領域と接触し、その結果サンプル調製ゾーンのサンプルは第2アプリケータ領域を通してアプリケータに入り、実質上アプリケータの全長を移動し、サンプル及び再溶解した標識化特異的結合パートナーが第1供給領域からクロマトグラフィーメジウムに供給されるように、第1及び第2対置成分が配置される。本発明による検定装置のもう一つの変形型はクロマトグラフィーメジウムに直接結合する被検体、例えばリポ多糖類などでイムノアッセイを実施するために適している。このような装置は次のものからなる：

(1) 次のものを含む第1対置成分：

(a) 第1端部と第2端部と第1及び第2面とを有するクロマトグラフィーメジウムであって、そのクロマトグラフィーメジウムは被検体を含む水性溶液から被検体をクロマトグラフィーメジウムに固定するために十分な被検体親和性をも

つ；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するアプリケーションであって、そのアプリケーションは対被検体一標識特異的結合パートナーを、アプリケーションへの水性液体の添加によって再溶解できる形で含む；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する吸収体；

(d) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口を有し、クロマトグラフィーメジウムへの液体供給を少なくとも1部阻止する障壁；

(2) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分。

この装置において、

第1及び第2対置成分を対置させる結果サンプル調製ゾーンが障壁と接触し、サンプル調製ゾーンのサンプルがクロマトグラフィーメジウムに供給され、試験サンプル中の被検体がクロマトグラフィーメジウム上の開口の少なくとも近くに固定されるように第1及び第2対置成分が構成される。

本発明による検定装置のもう一つの変形型は、標識化段階を始める前に捕捉段階が完了する連続イムノアッセイを実施するために特に有用である。このような装置は次のものからなる：

(1) 次のものを含む第1対置成分：

(a) 第1端部と第2端部と第1及び第2面とを有し、メジウム上の検出ゾーンに特異的結合パートナー固定してもつクロマトグラフィーメジウム；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するサンプル調製ゾーン；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する第1吸収体；

(d) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口をもち、クロマトグラフィーメジウムへの液体の適用を少なくとも1部阻止する障壁；

(2) 次のものを含む第2対置成分：

(a) 被検体に対する標識特異的結合パートナーを、アプリケーションへの水性液体添加によって再溶解できる形で含むアプリケーションであって、第1及び第2対置

成分が対置するとき、そのアプリケーションは障壁と接触し、再溶解した標識特異的結合パートナーが障壁の開口からクロマトグラフィーメジウムに供給されるようなアプリケーション；

(b) 第1及び第2対置成分を対置させるとき、第2吸収体及び第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムの複数部分と作動接触し、第2及び第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムから液体を取り出すように配置された第2及び第3吸収体。

本発明による検定装置のまた別の変形型は金標識が銀によって増幅するイムノアッセイを実施するのに適する。このような装置は次のものからなる：

(1) 次のものを含む第1対置成分：

(a) 第1端部と第2端部と第1及び第2面をもち、メジウム上の検出ゾーンに被検体に対する特異的結合パートナーを固定してもつクロマトグラフィーメジウム；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する吸収体；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するコンダクタ；

(d) 金ゾルで標識化した対被検体—特異的結合パートナーを、水性液体を結合ゾーンに添加することによって再溶解できる形で含む結合ゾーンであって、コンダクタと直接接触し、クロマトグラフィーメジウムの第1端部に間接的に接触する結合ゾーン；

(e) 結合ゾーンと直接接触する、試験サンプル供給のためのサンプル調製ゾーンであって、コンダクタと結合ゾーンとサンプル調製ゾーンとが、結合ゾーンがサンプル調製ゾーンとコンダクタとを架橋するように配置されるサンプル調製ゾーン；

(f) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための開口をもち、クロマトグラフィーメジウムへの液体供給を少なくとも1部阻止する障壁；

(2) 下記のものを含む第2対置成分：

(a) アプリケータへの水性液体の添加によって再溶解できる形で (A) 溶解性銀塩及び (B) 還元剤を含むアプリケーションであって、第1及び第2対置成分を

対置させるときアプリータが障壁に接触し、その結果再溶解した銀塩及び還元剤が障壁の開口を通してクロマトグラフィーメジウムに供給され；

(b) 第1及び第2対置成分を対置させるとき、第2吸収体及び第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムの複数部分と作動接触し、第2及び第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムから液体を取り出すように配置された、第2及び第3吸収体。

同様な装置において、第2対置成分は2領域からなるアプリータを含む；第1領域は水性液体を受け取るためのものであり、第2領域は可溶性銀塩及び還元剤を再溶解可能の形で含む。この装置においてアプリータは、第1及び第2対置成分を対置させるとき、アプリータの第1領域が障壁の開口と直接接触し、アプリータの第2領域はその開口と間接的に接触し、その結果水性液体がまず最初にクロマトグラフィーメジウムに供給されて洗浄を果たし、その後水性銀塩と還元剤が供給されるように配置される。

銀増幅イムノアッセイの実施のために適した本発明による検定装置のまた別の変形型は、ベースパネルとインサートを組み込む。その装置は次のものからなる：

(1) 下記のものを含むベースパネル：

(a) (i) 第1端部と第2端部と第1及び第2面とをもち、メジウム上の検出ゾーンに対被検体-特異的結合パートナーを固定して有するクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) 金ゾルで標識化した対被検体-特異的結合パートナーを、水性液体の結合ゾーンへの添加によって再溶解できる形で含む結合ゾーンであって、クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触する結合ゾーンと；

(iii) 結合ゾーンと作動接触するコンダクタであって、そのコンダクタとクロマトグラフィーメジウムの第1端部とを結合ゾーンが架橋しているという配置をもつコンダクタと；

(iv) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための開口をもつ実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体供給を少なくとも1部阻止する障壁；とを

含むベースパネル；

- (b) (i) 試験サンプルを含むスワブのための第1収容部と；
- (ii) 少なくとも1つの抽出試薬をスワブに添加するためのウェルと；
- (iii) 上記収容部及びウェルから離れた第1吸収体；とを含む第2対置成分と；

(c) インサート面及び第1及び第2対置成分の面の相対的動きに対してインサートを安定に保つための第2収容部；及び

(2) (a) アプリケーターへの水性液体の添加によって再溶解化できる形で（A）溶解性銀塩及び（B）還元剤を含むアプリケーターと；

(b) 第2吸収体と；

(c) 第3吸収体と；

(d) ベースパネルの第2収容部に挿入するための突出部；とを含むインサート

。ベースパネルの第1及び第2対置成分は、それらを対置させるとき、第1吸収体がクロマトグラフィーメジウムの一部と接触し、上記収容部がコンダクタと接触するように構成される。インサートは、突出部をベースパネルの第2収容部に挿入させるとき、アプリケーターが開口と作動接触し、アプリケーターの内容物をその開口からクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2及び第3吸収体は各々クロマトグラフィーメジウムの1部と作動接触して液体をクロマトグラフィーメジウムから引き出すように構成される。

同様な装置が酵素増幅イムノアッセイの実施のために使用できる。この装置において、インサートのアプリケーターは、対被検体-特異的結合パートナーに結合する酵素標識のための基質を再溶解可能な形で含む。酵素標識は、基質を含める反応を触媒することによって、不溶性の検出可能生成物を作り出す。

本発明による検定装置のその他の変形型は競合的イムノアッセイを実施するために適している。概して、競合的イムノアッセイの実施のために適した変形型は下記のものからなる：

(1) 第1端部と第2端部と第1及び第2面とを有し、メジウム上の検出ゾーンに固定した第2の特異的結合パートナーをもつクロマトグラフィーメジウムで

あって、第2の特異的結合パートナーは被検体に対する親和性に欠ける特異的結合対のメンバーに結合することができるというクロマトグラフィーメジウムと；

(2) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(3) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接する実質上液体不透過性障壁であって、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための少なくとも1つの開口をもち、クロマトグラフィーメジウムへの液体供給の少なくとも1部を阻止する障壁と；

(4) 障壁に隣接し、対被検体-特異的結合パートナーを固定して含む親和性膜。クロマトグラフィーメジウム、吸収体、障壁、開口及び親和性膜は、親和性膜に供給される液体が少なくとも1つの吸収体によってクロマトグラフィーメジウムを通過して移動し、サンプル中に被検体が存在する場合は標識検出試薬がクロマトグラフィーメジウムの検出ゾーンに結合するように配置される。

この装置は、被検体同族体を、水性液体のアプリケータへの添加によって再溶解できる形で含むアプリケータを組み込んだ第2成分を含めることによって作られ、上記被検体同族体は、被検体に対する親和性が欠乏している特異的結合対の1メンバーに共有結合した、特異的結合パートナーに結合できる被検体を含む。上記被検体同族体は検出可能標識で標識化されている。

#### 図の簡単な説明

本発明のこれらの及びその他の特徴、観点及び利点は下記の説明、添付の請求の範囲及び添付の図を参照することによってより良く理解される：

図1は本発明による基本的単一成分検定装置の側面図である；

図2は障壁に隣接したアプリケータを組み込んだ単一成分装置の側面図である；

図3Aは、第1成分上にクロマトグラフィーメジウム、障壁及びアプリケータを有し、第2成分上にサンプル調製手段をもち、これらの成分が分離している本発明による2成分検定装置の図である。

図3Bは、障壁、開口及びアプリケータを示す、図3Aの2成分検定装置の第



1成分の側面図である；

図4Aは、第1成分にクロマトグラフィーメジウム、障壁及び開口を有し、第2成分にアプリータを有する本発明による2成分検定装置の図である。

図4Bは、図4Aの2成分検定装置の第1成分の線B-B'に沿う、障壁と開口とを示す断面図である；

図5Aは、第1成分上にクロマトグラフィーメジウム、障壁、開口及びフィルター膜をもち、第2成分上にアプリータをもつ本発明による2成分検定装置の図である；

図5Bは、図5Aの2成分検定装置の第1成分の線C-C'に沿う、障壁、開口及びフィルター膜を示す断面図である；

図6Aは、第1成分上にクロマトグラフィーメジウム、障壁、開口、アプリータ及びフィルター膜をもち、第2成分上にサンプル調製ゾーンをもつ本発明によるもう一つの2成分検定装置の図である；

図6Bは、図6Aの2成分検定装置の第1成分の線D-D'に沿う、障壁、開口、アプリータ及びフィルター膜を示す断面図である。

図7Aは、第1成分上にクロマトグラフィーメジウム、第1障壁、開口、アプリータ、第2障壁及び分配膜をもち、第2成分上にスワブの容器をもつ、スワブ上のサンプルのために使用するのに適した本発明によるまた別の2成分検定装置の図である；

図7Bは、図7Aの2成分検定装置の第1成分の線E-E'に沿う、第1障壁、開口、アプリータ、第2障壁、及び分配膜を示す断面図である；

図8Aはスワブ上のサンプルを使用するサンドイッチイムノアッセイを実施するために適した本発明による2成分検定装置の図であり、アプリータは被検体に体する再溶解可能の標識化特異的結合パートナーを障壁膜に隣接して含む；

図8Bは、図8Aの2成分検定装置の第1成分及びクロマトグラフィーメジウムを線F-F'に沿う断面図であり、クロマトグラフィーメジウム、第1障壁及び開口、分配膜、第2障壁、アプリータ及び表面障壁及び開口を示す

図9Aは、クロマトグラフィーメジウム、障壁、開口及び親和性膜を組み込んだ、競合的イムノアッセイの実施に適した本発明による2成分検定装置の図であ

る；

図9 Bは、クロマトグラフィーメジウム、障壁、開口及び親和性膜の詳細を示す、図9 Aの2成分検定装置の第1成分の線G-G'に沿った断面図である。

図10 Aは、2つの障壁、アプリータ及びクロマトグラフィーメジウムを組み込んだいくつかの要素において異方性フローを行う本発明による2成分検定装置の図である；

図10 Bは、クロマトグラフィーメジウム、2つの障壁及びアプリータの詳細を示す、図10 Aの2成分検定装置の第1成分の側面図の線H-H'に沿った断面図である；

図11 Aはクロマトグラフィーメジウムに直接結合する例えば多糖類のような被検体の検定に適した本発明による2成分検定装置の図である；

図11 Bはクロマトグラフィーメジウム、アプリータ、吸収体、障壁及び開口の詳細を示す図10 Aの2成分検定装置の第1成分の線I-I'に沿った断面図である；

図12 Aは、検定すべき抗原の固定抗体による捕捉が標識段階の前におきる、被検体の連続検定に適した本発明による2成分検定装置の図9である；

図12 Bは、クロマトグラフィーメジウム、アプリータ、吸収体、障壁及び開口の詳細を示す、図12 Aの2成分検定装置の第1成分の線J-J'に沿う断面図である；

図13 Aは、金標識によって被検体を検出し、銀を用いて金標識の信号を増幅する、被検体の増幅検定の実施に適した本発明による2成分検定装置の図であり；

図13 Bは、クロマトグラフィーメジウム、そのクロマトグラフィーメジウムに直接または間接に接触する要素、障壁及び開口の詳細を示す、図13 Aの2成分検定装置の第1成分の線K-K'に沿う断面図である；

図14 Aは銀増幅段階前に洗浄が行われる、銀増幅を用いる被検体検定の実施に適した本発明による2成分検定装置の図である；

図14 Bは、クロマトグラフィーメジウム、そのクロマトグラフィーメジウムと直接または間接的に接触する要素、障壁及び開口の詳細を示す、図14 Aの2

成分検定装置の第1成分の線L-L'に沿う断面図である；

図15Aは、2成分ベースパネル及びインサートを用い、金標識を用いる被検体の銀増幅検定の実施に適した本発明による検定装置の図である；

図15Bは、クロマトグラフィーメジウム、そのクロマトグラフィーメジウムと直接または間接に接触する要素、障壁及び開口の詳細を示す、図15Aの検定装置のベースパネルの第1成分の線M-M'に沿った断面図である；

図16Aは、酵素標識抗体を、不溶性生成物を形成する基質と共に用いる酵素イムノアッセイの実施に適した、2成分ベースパネル及び挿入物を用いる本発明による検定装置の図である；

図16Bは、図16Aの検定装置のベースパネルの第1成分の線N-N'に沿った断面図であり、クロマトグラフィーメジウム、クロマトグラフィーメジウムと直接または間接的に接触する要素、障壁、及び開口の詳細を示す；

図17Aは、酵素免疫クロマトグラフィーに適した2成分ベースパネル及びインサートを用い、装置のベースパネルの第1成分上に酵素で標識化した対被検体-特異的結合パートナーを組み込む本発明による検定装置の図である；

図17Bは、図17Aの検定装置のベースパネルの第1成分の線O-O'に沿った断面図であり、クロマトグラフィーメジウム、クロマトグラフィーメジウムと直接または間接的に接触する要素、障壁、及び開口の詳細を示す、；

図18は、以下に記載する例2の寄生虫ギアルディの検出試験の実施のために用いられる、図7A及び7Bに示す装置の簡単な変形型の断面図である。

#### 説明

#### 定義

本開示の範囲では下記の用語は、特に指示しない限り次のように定義づけられる：

特異的結合パートナー：関連する分子類の三次元構造に依存する、特異的非共有の相互作用によって相互に作用する1対の分子のメンバー。特異的結合パートナーの典型的対としては、抗原-抗体、ハプテン-抗体、ホルモン-受容体、核酸鎖-捕捉的核酸鎖、基質-酵素、インヒビター-酵素、炭化水素-レクチン、

ビオチン-アジピン、ウィルス-細胞受容体がある。

作動接触：2つの固体成分が、水性液体が毛管現象またはその他の方法によって2成分の1つから他へほとんど連続的に流れ得るような仕方で直接または間接的に接触するとき、2固体成分は作動接触するという。“直接接触”とは2要素が端部-端部または前部-後部のように物理的に接触することを意味する。2成分が直接接触する場合、それらは約0.5から約3 mmの重なりをもって重なるのが普通である。しかしそれら成分を、端部を隣接して置くことができる。“間接的接触”とは、2要素が物理的に接触せず、1つ以上のコンダクタによって架橋されることを意味する。

限定容量：吸収体を設置した装置において検定を普通に行っている間に受け取る液体によってその吸収体が飽和状態になるとき、吸収体は限定容量をもつという。その点において吸収体は吸収した付加的液体を放出し、少なくとも部分的には伝導的になることができる。

被検体：用語“被検体”は、検定すべき実際の分子も、それらの同族体類、及び誘導体類も—このような同族体類及び誘導体類が被検体そのものとほぼ同様な方法で検定に用いるその他の分子と結合する場合—含む。

抗体：用語“抗体”は適切な特異性をもった完全無傷抗体分子及び抗体断片（F a b、F（a b'）及びF（a b'）2を含む）も、化学的に変形した完全無傷抗体分子及び抗体断片、例えばin vitroでサブユニット再集合により集めたハイブリッド抗体など、をも含む。

第2特異的結合パートナー：特異的結合パートナーの1対が相互に作用しているとき、その特異的結合パートナー対の1メンバーに結合する別の特異的結合パートナーを第2特異的結合パートナーと呼ぶ。例えば、1対の特異的結合パートナーはギアルディア抗原と家兔抗ギアルディア抗体からなる。その場合第2特異的結合パートナーはヤギ抗家兔IgG抗体である。第2特異的結合パートナーは、それが結合する抗体特異的結合パートナーの種、類または亜綱（サブクラス）に特異的であり得る。それに代わって、特異的結合パートナーの1つをビオチンで標識した場合、第2特異的結合パートナーはアジピンに共役結合した分子からなることができる。

## I. 障壁により調節する検定装置

本発明の 1 面は特異的結合相互作用に依存するイムノアッセイ及びその他の検定に有用な、障壁により調節する検定装置である。本発明による装置が特に有用な 2 種類の検定はサンドイッチイムノアッセイと競合的イムノアッセイである。

### A. 方法の原理

本発明による装置のすべてはクロマトグラフィーメジウムと、それに隣接する実質上液体不透過性の障壁をもつ。その障壁はクロマトグラフィーメジウムへの液体の供給を少なくとも 1 部は阻止する。障壁は液体をクロマトグラフィーメジウムへ供給するための開口をもつ。その開口は障壁より明らかに小さいのが普通である；それは好適にはラインまたはスリットの形である。

若干の場合には、液体は検定操作過程にその開口からクロマトグラフィーメジウムに供給されるものとする。これはクロマトグラフィーメジウムの両端部が吸収体によって結合しているときの状態である。その他の場合には液体はクロマトグラフィーメジウムの端部の 1 つを介して、並びに開口を介してクロマトグラフィーメジウムに入ることができる。すべての場合に液体は、クロマトグラフィーメジウムの平面に大体垂直な方向で開口からクロマトグラフィーメジウムに流れ込むものとする。クロマトグラフィーメジウムの平面以外の面におけるこの流れが本発明による検定装置の特徴である。これらのフロー特性は本発明による装置のより効率的な流れ、及び試薬のより効率的な利用をもたらす。

本発明の基本原理は単一成分検定装置に利用できるとはいえ、ヒンジによって連結された、または係止部材などの係合部材によって固定できる 2 つ以上の対置成分を含む検定装置を作ることが概して好適である。これはその成分に圧をかけて液体を 1 成分から他の成分に移し、流速を促進することができる。また別の場合、これらの装置は 2 つの対置成分を含み、その成分の 1 つはインサートを入れるための収容部を有する。この配列は酵素免疫クロマトグラフィー検定及び信号増幅、例えば銀増幅をする金ゾル標識などを含む検定には特に有用である。

### B. 本発明による装置に共通せる要素

本発明による検定装置には多数の要素が共通であり、便宜上ここに述べる。

## 1. クロマトグラフィーメジウム

クロマトグラフィーメジウムは細長い片である。その細長い片は実質上平面であるのが普通であるが、このことは必ずしもすべての利用に必要ではない。それは普通は矩形で、第1及び第2端部と第1及び第2表面をもつ。この説明全体において、用語“第1端部”は液体を最初にクロマトグラフィーメジウムに供給する方の端である。用語“第2端部”はクロマトグラフィーメジウムの反対側の端である。クロマトグラフィーメジウムの第1端部に、またはその近くに供給される液体は、必ずというわけではないが、サンプルまたは処理されたサンプルである。クロマトグラフィーメジウムは被検体及び被検体-抗体結合物の薄層クロマトグラフィーのためのメジウムとして適した材料、例えばニトロセルロース、ナイロン、レーヨン、セルロース、紙またはシリカなどからなる。クロマトグラフィーメジウムは必要に応じて前処理または改質できる。普通はクロマトグラフィーメジウムは透明であり、そのためそこに現れる着色ゾーンがどちら側からも見える。

## 2. 吸収体

本発明による多数の装置において、吸収体がクロマトグラフィーメジウムの1端部または両端部と作動接触する。それらの吸収体は、水性液体を十分に保持することができて、液体がその吸収体に蓄積するような、いかなる水分吸収性材料からも作ることができる。典型的材料は濾紙であるがこれに制限されるわけではない。

## 3. その他の液体運搬要素

下に述べるように、本発明による特定な装置においてはその他の液体運搬要素をサンプル調製云ーン、アプリータ、分配膜及び／またはコンダクタとして用いることができる。これらの要素は、水性液体を通しはするが、それらを実質的には吸収しない親水性媒質から作られる。このような材料は当業者には公知である。若干の場合これらの要素は、その要素に水性液体を添加することによって再溶解できる乾燥型の成分を含むことができる。

## 4. フィルター

本発明による或る装置は、例えば糞便またはその他の試料に存在するような微

粒子状要素を除去するために最低1つのフィルター要素を組み込む。或いは0.22  $\mu\text{m}$  または0.45  $\mu\text{m}$  の多孔度をもったフィルターは細胞または細菌をすべて除去することができる。適切なフィルター材料の選択は熟練せる当業者には公知である；種々の多孔性またはミクロ孔性材料、例えば適切な多孔度のチーズクロス、紙、綿、セルロース、ニトロセルロース、又は酢酸セルロースなどを用いることができる。

#### 5. 対置成分

本発明による検定装置の態様の多くは2つの対置成分からなる。対置成分の本体部は好適にはラミネート厚紙から作られる；それは水分に対して十分不透過性で、この装置によって行われる検定の実施に係る液体を置くことができる。その他のセルロースベース材料、例えば板紙または固体漂白スルフィド (SBS) なども使用できる。別法として対置成分の本体部は湿気を通さないプラスチックから作ることができる。適したプラスチックはポリカルボネートプラスチック、例えばレキサンSM (LexanSM) などである。

対置成分はヒンジによって結合する。ヒンジは問題なく結合し合うことのできる、例えばプラスチックなどの水性液体不透過性物質から作られるか、もしくは第1及び第2対置成分に使用する材料と同じものから作られる。

#### 6. 実質上液体不透過性障壁

本発明による装置はすべて少なくとも1つの実質上液体不透過性の障壁を備える。実質上液体不透過性障壁はプラスチック、厚紙、または紙、例えば接着性裏地で裏打ちした紙ラベルなどから作られる。実質上液体不透過性障壁は対置成分より薄いのが普通である。実質上液体不透過性障壁は、普通は約1ないし約10分間の検定時間中だけ実質上液体不透過性であればよい。

#### 7. 標識成分

サンドイッチイムノアッセイを実施するための検定装置では標識成分は対被検体-標識特異的結合パートナーであるのが普通である。ラベルは好適には目で検出できるラベル、例えばコロイド金属標識であるのが好ましい。好適にはコロイド金属ラベルは金、銀、銅、鉄または錫である；最も好適なのは金である。金標識抗体類及び抗原類の製法は、イムノサイトケミストリー (Immunocytochemistry)

Y

〕：現代の方法及びその応用 (Modern methods and applications) [ポラク (J. M. Polak) 及びバンオルデン (S. VanNoorden) 編集 ライト ブリストル、英国、1986、8章、115-145ページ] 中の、デメイ (J. DeMey) 著 “金プローブの製法及び使用 (The Preparation and Use of Gold Probes)” に記載されている；これは引例によってここに挿入される。コロイド金で標識化した抗体は例えばシグマケミカル社、セントルイス、ミズリー、から市販されている。

別法としてその他のコロイド標識、例えばコロイド状硫黄標識または色素ーシリカ標識なども用いられる。あまり好ましくない別法においては、目で検出できる標識はコロイド状ラテックス標識である。その他の標識、例えば放射性標識も用いることができる。

本発明の特殊の1態様は酵素標識成分類を使用する。これらは以下で論ずる。

#### C. 垂直／横方向フローを用いる検定装置

##### 1. 垂直／横方向フローを用いる基本的検定装置

単一成分で垂直／横方向フローを用いる本発明による装置は：

(1) 第1端部と第2端部と第1及び第2面をもつクロマトグラフィーメジウムであって、その検出ゾーンに対被検体－特異的結合パートナーを固定して含むクロマトグラフィーメジウムと；

(2) 第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(3) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための少なくとも1つの開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体供給を少なくとも1部は阻止する障壁からなる。

この装置においてクロマトグラフィーメジウム、吸収体、障壁及び開口は、障壁に供給される液体が少なくとも1つの吸収体によってクロマトグラフィーメジウムを通して運ばれ、被検体及び被検体のための検出試薬がクロマトグラフィーメジウム上の検出ゾーンに3成分コンプレックスを形成できるように構成される



普通は検定装置は少なくとも2つの吸収体を含む；その1つはクロマトグラ

フィーメジウムの第1端部と作動接触し、他の1つはクロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する。検出ゾーンは好適にはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さく、クロマトグラフィーメジウムは好適には、被検体またはその同族体を固定して含むコントロールゾーンをさらに有し、そのコントロールゾーンはクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さく、検出ゾーンと重ならない領域にある。この配列では、コントロール及び検出ゾーンは開口及び吸収体に対して、検出ゾーンが開口と吸収体の1つとの間にあり、コントロールゾーンが開口と他の吸収体との間にあるように配置される。

普通は検定装置はさらにクロマトグラフィーメジウムの第2面、すなわち障壁及び開口に隣接しない面に隣接する実質上透明な裏地を含んでなる。これはクロマトグラフィーメジウム及び被検体の検出のためにそこに結合した試薬帯またはゾーンを目で見ることができるためのものである。装置の使用者の視野にある障壁及びその他の成分も透明材料から作ることができる。

1 好適配列において、開口の面積は障壁の面積より実質上小さく、障壁はクロマトグラフィーメジウムに対して、液体が開口を通じてのみ障壁に隣接するクロマトグラフィーメジウム領域に入ることができるように置かれる。

普通はクロマトグラフィーメジウム及び少なくとも1つの吸収体は、クロマトグラフィーメジウムの平面に実質上平行な第2平面に位置する障壁と実質上平面を形成する。

基本的な単一成分装置を図1に示す。装置(10)は第1端部(14)、第2端部(16)及び第1及び第2面(18、20)をもつ二次元のクロマトグラフィーメジウム(12)を有する。クロマトグラフィーメジウム(12)は、クロマトグラフィーメジウム(12)の面積より実質上小さい、クロマトグラフィーメジウム上の検出ゾーン(22)に固定された対被検体-特異的結合パートナーを含む。好適にはクロマトグラフィーメジウム(12)は、クロマトグラフィーメジウム(12)より実質上小さく、検出ゾーン(22)と重ならない領域にあ

るコントロールゾーン（24）をさらに含み、そこには被検体またはその同族体が固定される。

装置（10）はクロマトグラフィーメジウム（12）の第1端部（14）と作動接触する第1吸収体（26）と、クロマトグラフィーメジウム（12）の第2端部（16）と作動接触する第2吸収体（28）をも有する。

装置（10）はクロマトグラフィーメジウム（12）の第1面（18）に隣接する実質上液体不透過性障壁（30）をも有する。障壁（30）は液体をクロマトグラフィーメジウム（12）に供給するための開口（32）を有する。開口（32）は障壁（30）より面積が実質上小さく、したがって液体はその開口（32）を通過のみ、クロマトグラフィーメジウム（12）の、障壁（30）に隣接した領域に入ることができる。

クロマトグラフィーメジウム（12）及び吸収体（26）及び（28）は実質上1平面にあるのが好適であり、障壁（30）はクロマトグラフィーメジウム（10）及び吸収体（26、28）によって決まる平面に実質上平行な第2面にあるのが好適である。コントロールゾーン（24）及び検出ゾーン（22）は開口（32）及び吸収体（26、28）に関して、検出ゾーンが開口（32）と1つの吸収体との間にあり、コントロールゾーン（24）が開口（32）と2つの吸収体のうちの他の1つとの間にあるように位置する。この装置においてクロマトグラフィーメジウム（12）における流れは、障壁（30）の開口（32）を介して供給される液体に関して等方性である。

検定装置（10）はクロマトグラフィーメジウム（12）の第2面（20）に隣接する実質上透明な裏地（34）をさらに含んでなる。

作動時には、検定すべきサンプルを対被検体-標識特異的結合パートナー水溶液と混合し、サンプルと標識特異的結合パートナーとを含む溶液を形成する。サンプルと標識特異的結合パートナーとを含む溶液を開口（32）に供給し、クロマトグラフィーメジウム（12）の少なくとも検出ゾーン（22）及び、もしあるならば、コントロールゾーン（24）を含む部分を通過させて移動させる。それから検出ゾーン（22）の標識特異的結合パートナーを観察及び／または測定する。

ことによって被検体を検出及び／または確認する。対被検体一標識特異的結合パートナーはコントロールゾーン（24）において被検体または同族体に結合し、試験が正しく行われたことを示す。開口（32）からコントロールゾーン（22）及び検出ゾーン（34）への流れは異なる方向であり、これが本発明に

よる検定装置の特徴である。こうしてサンプルと標識特異的結合パートナーとを含む同一溶液が検出ゾーン（22）及びコントロールゾーン（24）の両方へ接触することはない。

このための典型的サンプル量は $5\mu\text{l}$ — $100\mu\text{l}$ 、より典型的には $10\mu\text{l}$ — $40\mu\text{l}$ である。クロマトグラフィーメジウム内の流れはクロマトグラフィーメジウムの寸法及びその材料によって約30秒ないし約5分以内に生ずるのが普通であり、約1ないし2分以内にあらわれるのがより普通である。検定は概して室温で行われるが、所望ならば高めた温度、 $37^{\circ}\text{C}$ 、で行って、クロマトグラフィー及び（もし試薬が十分安定ならば）反応をスピードアップすることができる。もし使用試薬の安定性を高めるために所望ならば、検定を約 $4^{\circ}\text{C}$ まで下げた、より低い温度で行うこともできる。

## 2. 障壁に隣接するアプリケータを有する1成分検定装置

本発明による検定装置のさらにまた別の発展は、障壁に隣接するアプリケータを有する1成分検定装置である。アプリケータは、水性液体のアプリケータへの添加によって再溶解し得る形の対被検体一標識特異的結合パートナーを含む。これにより、サンプル及び標識特異的パートナーの別々の溶液を作り、その溶液を装置に供給する必要がなくなる。

この装置は次のものからなる：

（1）第1端部と第2端部と頭頂面と底面とを有し、メジウム上の上記検出ゾーンに固定された対被検体一特異的結合パートナーを含む平らなクロマトグラフィーメジウムと；

（2）クロマトグラフィーメジウムの少なくとも1つの端部と作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

（3）クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、上記のように液体をク

ロマトグラフィーメジウムに供給するための、その障壁を通過する開口を有する実質上液体不透過性の障壁と；

(4) 障壁に隣接するアプリケータであって、水性液体のアプリケータへの添加によって再溶解し得る形の対被検体一標識特異的結合パートナーを含むアプリケータ。

アプリケータは、障壁がそのアプリケータとクロマトグラフィーメジウムとの間に位置するように置かれ、アプリケータに供給されたサンプルは特異的結合パートナーを再溶解した後開口を通過して流れ、その後吸収体によってクロマトグラフィーメジウム上を流れ、被検体と対被検体一標識特異的結合パートナーはクロマトグラフィーメジウム上の検出ゾーンに3成分コンプレックスを形成する。この3成分コンプレックスはサンドイッチ イムノアッセイの特徴である。

上記の装置の場合のように、この装置はクロマトグラフィーメジウム上のコントロールゾーンと、第2の吸収体と（したがってクロマトグラフィーメジウムの両端部に吸収体がある）、クロマトグラフィーメジウムの第2面、すなわち障壁とは隣接しない面に接する実質上透明な裏打ちを含むのが好適である。

この装置は図2に示される。装置(40)には第1端部(44)及び第2端部(46)と第1及び第2面(48、50)を有する平らなクロマトグラフィーメジウム(42)がある。クロマトグラフィーメジウム(42)は検出ゾーン(52)に、そして好適にはコントロールゾーン(54)にも、固定された対被検体一特異的結合パートナーを有する。装置はクロマトグラフィーメジウム(42)の第1端部(44)と作動接触する第1吸収体(56)と、クロマトグラフィーメジウム(42)の第2端部(46)と作動接触する第2吸収体(58)とを有する。

この装置はクロマトグラフィーメジウム(42)の第1面(48)に隣接する実質上液体不透過性障壁(60)をも有する。障壁(60)はクロマトグラフィーメジウム(42)に液体を供給するための障壁を突き抜ける開口(62)を有する。開口(62)は上記のように障壁(60)より面積が実質的に小さい。

この装置(40)は障壁(60)に隣接するアプリケータ(64)をも有する

。アプリケータ（64）は水性液体のアプリケータ（64）への添加によって再溶解し得る形の標識特異的結合パートナーを含む。アプリケータ（64）は、障壁（60）がアプリケータ（64）とクロマトグラフィーメジウム（42）との間に位置するように置かれる。アプリケータ（64）に供給されたサンプルは、特異的結合パートナーを再溶解した後、開口（62）を通して流入し、その

後第1及び第2吸収体（56、58）によってクロマトグラフィーメジウム（42）上を流れ移動する。このような配列により、サンプル中の被検体と、対被検体ー標識特異的結合パートナーとはクロマトグラフィーメジウム（54）上の検出ゾーン（52）で3成分コンプレックスを形成することができる。さらにこの配列により、対被検体ー標識特異的結合パートナーがコントロールゾーン（54）において被検体または被検体同族体と結合し、検定が正しく行われたことを明らかにすることができる。

この装置はクロマトグラフィーメジウム（42）の第2面（50）に隣接した実質上透明な裏地（66）をも有する。

使用時にはサンプルをアプリケータ（64）に供給し、アプリケータ（64）中の標識特異的結合パートナーを再溶解せしめ、サンプルと再溶解した特異的結合パートナーとを含む溶液が形成される。サンプルと再溶解した特異的結合パートナーとを含む溶液はそれから開口（62）を通して流れ、その後クロマトグラフィーメジウム（42）の少なくとも検出ゾーン（52）を含む、及びもし存在するならばコントロールゾーン（54）をも含む部分を通して流れる。被検体の検出及び／または確認はその後検出ゾーン（52）及び／またはコントロールゾーン（54）の可視帯の存在を観察することによって行われる。

### 3. 第1対置成分上にアプリケータを有する2成分装置

本発明の装置のもう一つの発展は、ヒンジによって結合する少なくとも2つの成分、第1及び第2対置成分を有する装置である。

少なくとも2つの対置成分を備えた装置の1態様は次のものからなる：

(1) (a) 第1端部、第2端部、第1及び第2面を有し、メジウム上の検出ゾーンに固定された対被検体ー特異的結合パートナーを含むクロマトグラフィー

メジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1及び第2端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、クロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための1開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、クロマトグラフィーメジウムへの液体供給を少なくとも1部は阻止する障壁

とからなる第1対置成分と；

(2) 少なくとも1つの反応体を開口からクロマトグラフィーメジウムに直接または間接的に供給する第2対置成分。

この装置において、第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させる結果第2対置成分が少なくとも1つの反応体を開口からクロマトグラフィーメジウムに直接または間接的に供給するように構成されている。

圧によって、少なくとも1つの反応体の開口からクロマトグラフィーメジウムへの供給が容易になるように、第1及び第2対置成分を対置状態に保持し得ることが好適である。

2つの対置成分を使用する本発明による装置の好適1態様において、第1対置成分はクロマトグラフィーメジウムと、障壁と、対被検体一標識特異的結合パートナーを含むアプリケータとを有する。第2対置成分はサンプルを入れるためのサンプル調整ゾーンを有する。この装置は対置成分を対置させ、そこに圧をかけるための手段をも有する。圧は液体を1つの対置成分から他の対置成分に、対置成分に対して実質的に垂直な方向で移動させるために十分な圧であり、移った液体は障壁かまたは障壁に実質上平行せる他の要素に供給される。圧がかかると液体移動速度及び効率は著しく高まり、液体を含む要素に残される試薬のデッド容量は最小になる。

本発明は次のものからなる：

(1) 平らなクロマトグラフィーメジウムと、最低1つの吸収体と、1開口を有する実質上液体不透過性の障壁と、その障壁に隣接するアプリケータを含む第1対置成分、及び

(2) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分。

第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置するときサンプル調製ゾーンがアプリケーションと接触し、サンプル調製ゾーンのサンプルがアプリケーションに供給され、その結果再溶解可能の特異的結合パートナーの再溶解及びクロマトグラフィーメジウムを通過するクロマトグラフィーがおこるように構成される。

このサンプル調製ゾーンはサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含むことができる。サンプル調製ゾーンに存在し得る試薬または試薬類はサンプル調

製ゾーンに供給されるサンプルによって、及び検定すべき被検体によって変化する。それらにはpHを調節するための酸類またはアルカリ類、pHを安定するための緩衝液、金属をキレート化するEDTAまたはEGTAのようなキレート剤、動物細胞の細胞膜または細菌の細胞膜を溶解して被検体を遊離させる加水分解酵素類、酵素類のための基質類または補酵素類などがあるが、これらに制限されるものではない。特に有用な1抽出試薬は亜硝酸ナトリウムと酢酸との混合物であって、これは硝酸を発生する。亜硝酸ナトリウムは乾燥型でサンプル調製ゾーンに存在し得る、そしてサンプルを添加後、酢酸をサンプル調製ゾーンに加えることができる。

この装置は図3A及び3Bに描かれる。2成分の配置は図3Aに示され、図3Bには第1成分の線A-A'で切られる第1成分の断面図が示され、障壁及び開口の詳細が示される。装置(70)はヒンジ(76)で結合する第1対置成分(72)と第2対置成分(74)を有する。第1及び第2対置成分(72、74)は好適には、対置成分(72)と(74)を対置位置に固定する係合部材をさらに含む。係合部材は、第1対置成分(72)と第2対置成分(74)を対置させるとき係合する係止部材(78)及び(80)のような係止部材からなる。サンプル類または試薬類の漏れを防ぐために漏止め隆起縁またはガスケット(82)が第1及び第2対置成分(72、74)の周囲に配設される。

第1対置成分(72)は、第1端部(86)及び第2端部(88)、及び第1及び第2面(90)、(92)を有する平らなクロマトグラフィーメジウム(84)を含む。そのクロマトグラフィーメジウム(84)は検出ゾーン(94)及

び好適にはコントロールゾーン（96）をも含む。第1対置成分（72）はクロマトグラフィーメジウム（84）の第1端部（86）と作動接触する第1吸収体（98）と、クロマトグラフィーメジウム（84）の第2端部と作動接触する第2吸収体（100）を含む。

装置（70）はクロマトグラフィーメジウム（84）に隣接する実質上液体不透過性障壁（102）を有する。障壁（102）はクロマトグラフィーメジウム（84）に液体を供給するための、障壁を突き抜ける開口（104）を有する。

第1対置成分（72）は障壁（102）に隣接するアプリータ（106）も含む。アプリータ（106）は対被検体一標識特異的結合パートナーを再溶解し得る形で含む。アプリータ（106）は、障壁（102）がアプリータ（106）とクロマトグラフィーメジウム（84）との間に位置するように置かれる。

第1対置成分（72）はクロマトグラフィーメジウム（84）を見ることのできる開口部（108）も含む。

第2対置成分（74）はサンプル調製ゾーン（110）を含む。それはサンプルがアプリータ（106）に供給される前にサンプルを処理する最低1つの試薬を含むことができる。サンプルを、または任意にサンプリング手段、例えば咽喉スワブまたは微孔性フィルター、を試験者がサンプル調製ゾーン（110）に置くことができる；もし必要ならばその他の試薬類を加えることができる。

作動時にはサンプルをサンプル調製ゾーン（110）に供給する。所望ならばサンプル処理のための少なくとも1つの試薬とサンプルとを反応させて処理済みサンプルを生成するように、サンプルをサンプル調製ゾーン（110）でインキュベートすることができる。第1及び第2対置成分（72、74）をその後対置させ、サンプルがサンプル調製ゾーン（110）からアプリータ（106）に移動するようにする。アプリータ（106）に移ったサンプルはその後アプリータ（106）中の標識特異的結合パートナーを再溶解する、そして上記の単一成分装置と同様に、被検体のクロマトグラフィー及び検出が行われる。

#### 4. 第2対置成分上にアプリータがある2成分装置



本発明によるもう一つの2成分装置は図3に記載の装置に似ているが、第2対置成分上にアプリータを有する。アプリータは対被検体一標識特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含み、サンプル処理のための1つ以上の試薬類も含むことができる。

この装置は次のものからなる：

(1) 第1端部及び第2端部と、第1及び第2面とを有し、上記のように対被検体一特異的結合パートナーを固定して含む平らなクロマトグラフィーメジウムと、クロマトグラフィーメジウムの両端部の少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と、クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、上記の

ようにクロマトグラフィーメジウムに液体を供給するための1開口を有する実質上液体不透過性障壁とを含む第1対置成分；及び

(2) サンプルを供給するためのアプリータであって、対被検体一標識特異的結合パートナーを水性液体添加により再溶解し得る形で含むアプリータを有する第2対置成分。

この装置は図4A及び図4Bに示される。2成分の配置は4図に示され、第1成分の線B-B'で切られる断面図は図4Bに示され、障壁及び開口の詳細を示す。装置(120)はヒンジ(126)によって結合した第1対置成分(122)と第2対置成分(124)を有する。第1及び第2対置成分(122)、(124)は好適には、第1及び第2対置成分(122、124)を対置させるとき係合する係止部材(128)及び(130)、及び漏止め隆起縁またはガスケット(132)をさらに含む。

第1対置成分は、第1端部(136)、第2端部(138)及び第1及び第2面(140、142)を有する平らなクロマトグラフィーメジウム(134)を含む。クロマトグラフィーメジウム(134)はクロマトグラフィーメジウム(134)の面積より明らかに小さい面積の検出ゾーン(144)に固定された対被検体一特異的結合パートナーを含み、好適には被検体または被検体同族体のコントロールゾーン(146)をも有する。

第1対置成分(122)はクロマトグラフィーメジウム(134)の第1端部

(136) と作動接触する第1吸収体(148)及びクロマトグラフィーメジウム(134)の第2端部(138)と作動接触する第2端部(150)も有する。第1対置成分(122)はクロマトグラフィーメジウム(134)の第1面(140)に隣接する実質上液体不透過性障壁(152)をも有する。障壁(152)はクロマトグラフィーメジウム(134)に液体を供給するための、障壁を突き抜ける1開口(154)を有する。その開口(154)は障壁(152)より面積が実質的に小さく、そのため液体はその開口(154)を通じてのみクロマトグラフィーメジウム(134)の、障壁(152)に隣接する領域に入ることができる。クロマトグラフィーメジウム及び吸収体(148、150)は実質上平面で、障壁(152)はクロマトグラフィーメジウム(134)と吸収体

(148)、(150)によって決まる平面に実質上平行な第2平面に位置する。コントロールゾーン(146)及び検出ゾーン(144)は開口(154)、吸収体(148)及び(150)に対して、検出ゾーン(144)が開口(154)と吸収体の1つとの間にあり、コントロールゾーン(146)が開口(154)ともう1つの吸収体との間にあるように位置する。第1対置成分(122)はクロマトグラフィーメジウム(134)の少なくとも1部を見るための窓(156)も含む。

第2対置成分(124)は、対被検体-再溶解可能標識特異的結合パートナーを含む、サンプルが供給されるアプリケータ(158)を有する。アプリケータ(156)はサンプルを処理するための少なくとも1つの試薬を乾燥型で含むことができる。

使用時にはサンプルをアプリケータ(156)に供給し、対被検体-標識特異的結合パートナーを再溶解させる。所望ならば、サンプルをアプリケータ(156)中でインキュベートし、サンプル処理のためのいかなる試薬をもサンプルと確実に反応させることができる。第1及び第2対置成分(132、134)をその後対置させると、サンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーが開口(154)を通過してクロマトグラフィーメジウムに供給される。クロマトグラフィーメジウム(134)上の検出ゾーン(144)に結合した標識特異的結合パート

ナーを観察することによって、被検体のクロマトグラフィー及び検出は上記のように行われる。

#### 5. 微粒子を除去するためのフィルターを有する装置

a. 再溶解せる標識特異的結合パートナーの導入後の液体通路にフィルターを有する装置

本発明による装置の若干の変形型は胃腸疾患の指標として糞便潜血を検出するために用いる糞便サンプルのようなサンプルから例えば糞便などの粒子を除去するためのフィルターを備える。このような1装置は再溶解した特異的結合パートナーの挿入後の液体通路にフィルターを置く。この装置は第2対置成分に再溶解可能型の標識特異的結合パートナーを含むアプリケータを有する。

この変形型のフィルター含有装置は：

(1) 第1端部及び第2端部及び第1及び第2面を有し、そこに固定した対被検体-特異的結合パートナーを含むクロマトグラフィーメジウムと、クロマトグラフィーメジウムの両端部のうちの1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と、クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための1開口をもつ実質上液体不透過性障壁と、障壁に隣接して粒子を除去するフィルターとを含む第1対置成分と；

(2) サンプルを供給するためのアプリケータを含む第2対置成分とからなる。この装置において、クロマトグラフィーメジウム、障壁及びフィルターは、障壁がフィルターとクロマトグラフィーメジウムとの間に位置するように配設される。第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させるとき、アプリケータがフィルターと接触し、アプリケータ中のサンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーとがフィルターに供給され、その後障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに達し、クロマトグラフィーにかけられるように構成される。

この装置は図5A及び5Bに描かれる。2成分の配置は図5Aに示され、第1成分の線C-C'で切られる断面は図5Bに示され、障壁、開口及びフィルター膜の詳細を示す。装置(170)はヒンジ(176)で結合した第1対置成分(

172) 及び第2対置成分(174)を含む。第1及び第2対置成分(172、174)は、第1及び第2対置成分(172、174)を対置させるときに係合する係止部材(178)及び(180)、及び漏れ止め隆起縁かガスケット(182)をさらに含むのが好適である。

第1対置成分(172)は第1端部(186)と第2端部(188)と第1及び第2面(190、192)とを有する平らなクロマトグラフィーメジウム(184)を含む。そのクロマトグラフィーメジウム(184)はクロマトグラフィーメジウム(184)の面積より実質的に小さい面積の検出ゾーン(194)に固定された対被検体-特異的結合パートナーを有し、好適にはクロマトグラフィーメジウム(184)上に被検体またはその同族体を固定して含むコントロールゾーン(196)をも含む。第1対置成分(172)はクロマトグラフィーメジウム(184)の第1端部(186)と作動接触する第1吸収体(1

98) 及びクロマトグラフィーメジウム(184)の第2端部(188)と作動接触する第2吸収体(200)をも含む。

第1対置成分(172)はクロマトグラフィーメジウム(184)の第1面(190)に隣接する実質上液体不透過性障壁(202)も含む。障壁(202)は液体をクロマトグラフィーメジウム(184)に供給するための障壁を突き抜ける1開口(204)を有する。開口(204)は障壁(202)より面積が実質的に小さいため液体はその開口(204)を通過してのみ障壁に隣接するクロマトグラフィーメジウム(184)領域に入ることができる。

第1対置成分(172)はさらに障壁に隣接して粒子を除去するフィルター(206)を含む。

第1対置成分(172)はその他に、クロマトグラフィーメジウム(184)の少なくとも1部を見るための窓(208)を含む。

第2対置成分(174)は再溶解し得る形の標識特異的結合パートナーを含むアプリケーション(210)を含む。アプリケーション(210)はサンプルを処理するための少なくとも1つの試薬をさらに含むことができる。

作動時には、第1及び第2対置成分(172)、(174)を対置させ、アプ

リケータ (210) がフィルター (206) と接触し、そのためアプリータ (210) 中のサンプル及び再溶解した標識特異的結合パートナーがフィルター (206) に供給され、その後フィルター (206) を通過し、開口 (204) を通ってクロマトグラフィーメジウム (184) 上に達し、上記のように被検体のクロマトグラフィー及び検出が行われる。b. 再溶解せる標識化特異的結合パートナーの導入前の液体通路にフィルターを有する装置

この変形型は、微粒子が標識化特異的結合パートナーの再溶解を妨害し、または標識特異的結合パートナーと被検体との反応を妨害するような場合に特に有用である。

この変形型は次のものからなる：

(1) (a) 第1端部と第2端部と第1及び第2面とを有し、対被検体—特異的結合パートナーを上記のように固定して含む平らなクロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの両端部のうち少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、上記のように液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための1開口をもつ実質上液体不透過性障壁と；

(d) 障壁に隣接し、対被検体—標識特異的結合パートナーを再溶解し得る形で含むアプリータと；

(e) アプリータに隣接する、粒子を除去するためのフィルター；とを含む第1対置成分と；

(2) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分。

障壁とアプリータとフィルターは、アプリータが障壁とフィルターとの間に位置し、障壁はクロマトグラフィーメジウムに最も近く位置するように配設される。第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させるときサンプル調製ゾーンがフィルターに接触し、サンプルがフィルターに供給され、濾過されたサンプルがアプリータに供給され、標識化特異的結合パートナーを再溶解

し、アプリケーションは濾過されたサンプルと標識特異的結合パートナーとの溶液を形成し、濾過されたサンプルと標識特異的結合パートナーとの溶液は障壁の開口を通過してクロマトグラフィーメジウムに供給されるように構成される。

この変形型は図6A及び図6Bに描かれる。2成分の配列は図6Aに示され、第1成分の線D-D'によって切られる断面は図6Bに示され、障壁、開口、アプリケーション及びフィルター膜の詳細を示す。装置(220)はヒンジ(226)によって結合した第1対置成分(222)及び第2対置成分(224)を有する。第1及び第2対置成分(222)、(224)は、第1及び第2対置成分(222)、(224)を対置させたときに係合することができる係止部材(228)及び(230)をさらに含むことが好適である。漏れ止め隆起縁またはガスケット(232)が第1及び第2対置成分(222)、(224)の周囲に配設される。第1対置成分(222)は第1端部及び第2端部(236)、(238)、第1面(240)及び第2面(242)を有するクロマトグラフィーメジウム(234)を含む。クロマトグラフィーメジウム(234)は検出ゾーン

(244)と、好適には、検出ゾーン(244)と重ならないコントロールゾーン(246)を有する。第1対置成分はクロマトグラフィーメジウム(234)の第1端部(236)と作動接触する第1吸収体(248)及びクロマトグラフィーメジウム(234)の第2端部(238)と作動接触する第2吸収体(250)をも含む。

第1対置成分(222)はクロマトグラフィーメジウム(234)の第1面(240)に隣接する液体不透過性障壁(252)も含む。その障壁は液体をクロマトグラフィーメジウム(234)に供給するための、障壁を突き抜ける1開口(254)を有する。開口(254)は障壁(252)より面積が実質的に小さいため液体はその開口(254)を通過してのみクロマトグラフィーメジウム(234)に入ることができる。

第1対置成分(222)はさらに障壁(252)に隣接するアプリケーション(256)を含む。アプリケーションは対被検体-標識特異的結合パートナーを再溶解し得る形で含む。第1対置成分は粒子を除去するための、アプリケーション(256)

に隣接するフィルター（258）をも含む。フィルター（258）、アプリケーション（256）及び障壁と開口（252）、（254）は、第1対置成分（222）に移された液体が先ずフィルター（258）に供給され、それからアプリケーション（256）に、そして最後に障壁（252）の開口（254）に供給され、クロマトグラフィーメジウム（234）に移されるように配置される。

好適には第1対置成分（222）はクロマトグラフィーメジウム（234）の第2面（242）に隣接した窓（260）をさらに含む。

第2対置成分（224）はサンプル処理のため試薬を少なくとも1つ含むことのできるサンプル調製ゾーン（262）を含む。

作動時には、サンプルは第2対置成分（224）に供給され、所望ならばインキュベーションを行い、第1及び第2対置成分（222）、（224）を対置させる。クロマトグラフィー及びクロマトグラフィーメジウム（234）の検出ゾーン（244）における被検体の検出はほぼ上記のように行われる。

## 6. スワブを抽出する装置

スワブの抽出のために本発明による検定装置のもう一つの変形型を用いる。多

くの場合生物学的サンプルはスワブで採取する。そして抽出容器中で反復抽出することなくスワブからサンプルを抽出することは難しい。このような複数回の抽出の実施は労力及び時間をかなり消費しなければならず、しかも棄てなければならない廃物の多量発生に通ずる。これは、エイズや肝炎のように分泌物によって広がる疾患が増えている折から、ますます重大な問題となっている。

スワブの抽出及びスワブに含まれる被検体の検定のための本発明による装置は次のものからなる：

（1）（a）第1端部と第2端部と第1及び第2面とを有し、対被検体—特異的結合パートナーを上記のように固定して含む平らなクロマトグラフィーメジウムと；

（b）クロマトグラフィーメジウムの両端部のうち少なくとも1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

（c）クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、上記のように液体をク

ロマトグラフィーメジウムに供給するための1開口をもつ第1の実質上液体不透過性障壁と；

(d) 第1障壁に隣接するアプリケータであって、対被検体一標識特異的結合パートナーを水性液体のアプリケータへの添加によって再溶解し得る形で含むアプリケータと；

(e) アプリケータの中心部分に隣接する第2の実質上液体不透過性障壁と；

(f) 第2障壁と隣接し、アプリケータの、第2障壁と隣接しない部分と作動接触する分配膜であって、液体がその分配膜から第2障壁を迂回してのみアプリケータに流れることができるような分配膜；を含む第1対置成分と、

(2) 試験サンプルを含むスワブを入れる収容部を有する第2対置成分。

第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させるとき、収容部に挿入されているスワブが分配膜と接触し、スワブ中のサンプルが分配膜に供給され、それから第2障壁の回りを通過し、アプリケータを通った後に第1障壁の開口を通過してクロマトグラフィーメジウムに供給されるように構成される。

スワブ抽出のために適した装置は図7A及び図7Bに描かれる。図7Aは2成分の配置を示し、図7Bは第1成分の線E-E'で切られる断面を示し、第1障

壁、開口、アプリケータ、第2障壁及び分配膜の詳細を示す。装置(264)はヒンジ(267)で結合した第1対置成分(265)及び第2対置成分(266)からなる。第1及び第2対置成分(265)、(266)は好適には対置成分と一緒に固定する係止部材(268)及び(269)を含む。ガスケット(270)が第1及び第2対置成分を取り巻き、それらを対置させるときにサンプルまたは試薬の漏れを防ぐ。ガスケット(270)は、スワブの細い末端、例えば木の柄またはドエルなどに合わせた開口(271)を有することができる。

第1対置成分(265)は、第1端部(273)と第2端部(274)と第1面(275)と第2面(276)とを有するクロマトグラフィーメジウム(272)を含む。クロマトグラフィーメジウム(272)は上記のように検出ゾーン(277)及びコントロールゾーン(278)を備える。第1対置成分(265)は、クロマトグラフィーメジウム(272)の第1端部(273)と作動接触す



る第1吸収体(279)と、クロマトグラフィーメジウム(272)の第2端部(274)と作動接触する第2吸収体(280)をも有する。

第1対置成分(265)には、クロマトグラフィーメジウム(272)の第1面(275)に隣接し、上記のようにクロマトグラフィーメジウム(272)に液体を供給するための開口(282)を有する第1の実質上液体不透過性障壁(281)もある。

第1対置成分(265)は第1障壁(281)に隣接するアプリケータ(283)をも含む。アプリケータ(283)は対被検体一標識特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含む。それに加えて、第1対置成分(265)はアプリケータ(283)の中心部分に隣接する第2の実質上液体不透過性障壁(284)を含む。分配膜(285)が第2障壁(284)に隣接し、アプリケータ(283)の、第2障壁(284)に隣接していない部分と作動接触する。液体は分配膜(285)からアプリケータ(283)に第2障壁(284)の周囲からのみ流れる。さもなくば、分配膜(285)を省略し、液体を第2障壁(284)に直接供給し、液体が第2障壁(284)の周囲を通りアプリケータ(283)に流れるようにすることもできる。

第1対置成分(265)はクロマトグラフィーメジウム(272)を見ることが  
できる窓(286)も含む。

第2対置成分(266)は、試験サンプルを含むスワブ(288)のための収容部(287)を含む。第1及び第2対置成分(265)、(266)を対置させると、収容部(286)のスワブ(288)は分配膜(285)と接触する。スワブ(288)中のサンプルは分配膜(285)に供給され、その後第2障壁(284)を回ってアプリケータ(283)を通り、その後第1障壁(281)の開口(282)を通過してクロマトグラフィーメジウム(272)に供給される。使用時にスワブ(288)を第2対置成分(266)の収容部(286)に入れる。所望ならば抽出試薬または抽出試薬類を収容部(286)中のスワブ(288)に加えることができる。この場合収容部(286)は抽出試薬類に順応し、それら試薬類をスワブ(288)に供給するように設計される。第1及び第2

対置成分（265）、（266）を対置させると、スワブ（288）のサンプルが上記のように分配膜（285）に供給される。

スワブの抽出及びスワブに含まれる被検体の検定のために適した本発明によるもう一つの装置は次のものからなる：（1）（a）第1端部と第2端部と第1及び第2面とを有し、対被検体—特異的結合パートナーを上記のように固定して含む平らなクロマトグラフィーメジウムと；

（b）クロマトグラフィーメジウムの両端部のうちの1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

（c）クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、上記のように液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための1開口をもつ実質上液体不透過性障壁と；

（d）第1の実質上液体不透過性障壁に隣接して液体を第1の実質上液体不透過性障壁の第1開口に向ける分配膜と；

（e）分配膜の中心部分に隣接する第2の実質上液体不透過性障壁と；

（f）対被検体—標識特異的結合パートナーを再溶解し得る形で含み、障壁膜に隣接して位置するアプリケータであって、液体はアプリケータから第2障壁を回って、分配膜の、第2の実質上液体不透過性障壁が直接隣接しない部分に流れることができるアプリケータと；

（g）液体をアプリケータに供給するための第2開口を含む表面障壁；を含む第1対置成分と；

（2）試験サンプルを含むスワブを入れる収容部を含む第2対置成分。

第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させるとき、収容部に入れられたスワブが表面障壁及び第2開口と接触し、スワブ中のサンプルがアプリケータに供給され、その後第2障壁の回りを通り、分配膜を通った後に第1障壁の開口を通してクロマトグラフィーメジウムに供給されるように構成される。

この装置は図8A及び8Bに示される。図8Aは2成分の配置を示し、図8Bは第1成分の線F—F'に沿う断面図を示し、第1障壁、開口、アプリケータ、第2障壁、及び分配膜の詳細を示す。装置（290）はヒンジ（293）で結合

した第1対置成分(291)と第2対置成分(292)からなる。第1及び第2対置成分(291)、(292)は好適にはそれら対置成分と一緒に固定する係止部材(295)及び(296)を含む。ガスケット(297)が第1及び第2対置成分(291)、(292)を取り巻き、それらに対置させるときサンプルまたは試薬類の漏れを防ぐ。ガスケット(297)はスワブの細い末端、例えば木の柄またはドエルなどに合う開口(298)をもつことができる。

第1対置成分(291)は第1端部(300)、第2端部(301)、第1面(302)、及び第2面(303)を有するクロマトグラフィーメジウム(299)を含む。クロマトグラフィーメジウム(299)は上記のように検出ゾーン(304)とコントロールゾーン(305)を備える。第1対置成分(291)はクロマトグラフィーメジウム(299)の第2端部(300)と作動接触する吸収体(306)を有する。

第1対置成分(291)は、クロマトグラフィーメジウム(299)の第1面(302)に隣接し、上記のようにクロマトグラフィーメジウム(299)に液体を供給するための第1開口(308)を有する第1の実質上液体不透過性障壁(307)をも含む。

第1対置成分(291)は、第1の実質上液体不透過性障壁(307)に隣接し、液体を第1障壁(307)の第1開口(308)に向ける分配膜(309)をも含む。分配膜(309)の中心部分に隣接して第2の実質上液体不透過性障

壁(310)がある。第1対置成分(291)は対被検体一標識特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含み、第2障壁(310)に隣接して位置するアプリケーションータ(311)をも含む。液体はアプリケーションータ(311)から第2障壁(310)の周囲を通り分配膜(309)の第2実質上液体不透過性障壁(310)が直接隣接していない部分に流れることができる。それに加えて、第1対置成分(291)は、液体をアプリケーションータ(311)に供給するための第2開口(313)を含む表面障壁(312)を有する。好適には表面障壁(312)は第1対置成分(291)の表面とほぼ同じ水準に位置する；すなわち表面障壁(312)の下に諸成分が第1対置成分(291)内に位置する。第1対置成分(291)

は圧を軽減するための1つ以上の抜け口(314)も含むことができる。

第1対置成分(291)はクロマトグラフィーメジウム(299)を見ることができる窓(315)をも含む。

第2対置成分(292)は試験サンプルを含むスワブを入れる収容部(316)と、好適にはスワブに1つ以上の試薬を加えるためのウェル(317)を含む。第1及び第2対置成分(291)、(292)を対置させると、収容部(316)中のスワブは表面障壁(312)及び第2開口(313)と接触する。スワブのサンプルはアプリケータ(311)に供給され、それから第2障壁(310)を回り、分配膜(309)を通過した後にクロマトグラフィーメジウム(299)に供給される。使用時に、スワブ(288)を第2対置成分(292)の収容部に入れ、所望ならば抽出試薬または一試薬類をウェル(317)に加えることができる。第1及び第2対置成分(291)、(292)を対置させ、検定を行い、結果を読む。

#### 7. 競合的イムノアッセイのための装置

本発明による装置は競合的イムノアッセイ並びにサンドイッチイムノアッセイのために用いることができる。

競合的検定は1価の被検体に用いるのが普通である。1価の被検体は典型的にはハプテンであるが、1価のいかなる被検体、例えば付加的抗体結合部位をブロックまたは改質した普通は多価である抗原などを同じ原理を用いて検定することができる。検定可能の被検体としては次のものがある：テオフィリン、ジゴキ

シン、ジソピラミド、リドカイン、プロカインアミド、プロプラノロール、キニジン、アミカシン、ペニシリン及びその他の $\beta$ -ラクタム抗生物質、クロラムフェニコール、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネチルマイシン、トブラマイシン、三環式抗うつ剤、エトスキシミド、フェノバルビタール、ジアゼパム、フェニトイン、プリミドン、バルプロ酸、アセタミノフェン、アセチルサリチル酸、イブプロフェン、メトトレキセート、濫用薬物、例えばモルフィン、コデイン、コカイン、フェンタニル、3-メチルフェンタニル、アンフェタミン類、リセルグ酸ジエチルアミド、フェンサイクリジン、及びヘロイン及びそれらの代謝産物類

など、DNP、1-置換-4-ヒドロキシ-2-ニトロベンゼン類、4-置換2-ニトロトリアルキルアニリウム塩類、及び環境汚染物、例えばベンゼン、トルエン、キシレン、エチルベンゼン、クロルダン、DDT及びその代謝産物類、2、4-D、2、4、5-T及びアトラジンなど。

これらの検定の実施に適した特異的結合パートナーは抗体類及び特異的結合蛋白質類であるが、これらに制限されるものではない。後者の例はステアロテルモフィルス菌 (Bacillus stearothermophilus) から分離したペニシリン結合蛋白質 (PBP) である。競合的イムノアッセイの実施のために用いられたた多くのこれまでの検定装置とは異なり、本発明による装置はサンプル中の被検体の存在が装置の検出ゾーンに陽性—または検出可能の結果、例えば有色線を与えるという長所を有する。競合的イムノアッセイにおいては普通、検出可能信号の発現は陰性結果を示す (被検体が存在しない)。こうして観察結果と検出との間には逆の関係が存在する。被検体濃度と検出信号との間に直接的関係を与える本発明の装置は、偽りの負 (false negative) の結果を与える可能性が小さい。これらの装置は広い積極的利用領域をもつ。

本発明による競合的イムノアッセイ装置において標識成分は、サンドイッチイムノアッセイを行う装置には一般的な抗被検体抗体ではなく、被検体同族体である。この被検体同族体は特異的結合対の1メンバーに共有結合した被検体を含む。特異的結合対のそのメンバーは被検体に対する親和性をもたず、クロマトグラフィーマジウムの検出ゾーンに固定した第2の特異的結合パートナーと結合可

能である。この系の競合的観点は、被検体の特異的結合パートナーを固定している親和性膜の使用から生まれる。例えば試験サンプル中の被検体が (もし存在するなら) 親和性膜との結合に関して標識被検体同族体と競争し、被検体が存在しない場合は標識被検体同族体の全部またはほとんど全部が親和性膜上の特異的結合パートナーによって結合され、クロマトグラフィーマジウムまで到達しない。被検体が試験サンプル中に存在するならば、標識被検体同族体の少なくとも若干は親和性マジウム上の特異的結合パートナーに結合することができない、なぜならば試験サンプル中の非標識被検体と) 被検体同族体とが競合するからである。

そこで標識被検体同族体の少なくとも若干はクロマトグラフィーメジウムに到達し、検出ゾーンの二次的特異的結合パートナーによって結合する。試験サンプル中の被検体濃度が大きければ大きいほど、クロマトグラフィーメジウムに到達する標識被検体同族体の量は多くなる。

このような競合的イムノアッセイに適した装置は次のものからなる。

(1) (a) 第1端部、第2端部及び第1及び第2面を有し、クロマトグラフィーメジウムより小さい面積をもつ検出ゾーンに固定された二次的特異的結合パートナーを含む平らなクロマトグラフィーメジウムであって、上記二次的特異的結合パートナーは被検体に対する親和性をもたない特異的結合対の1メンバーに結合できる(標識被検体同族体)クロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの両端部のうちの1つと作動接触する少なくとも1つの吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの頭頂面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、上記開口は障壁より面積が実質的に小さく、そのため液体はその開口を通じてのみクロマトグラフィーメジウムに入ることができる障壁と；

(d) 障壁に隣接する親和性膜であって、对被検体-特異的結合パートナーを固定して含む親和性膜；を含む第1対置成分と；

(2) アプリケータを含む第2対置成分であって、アプリケータは、水性液体のアプリケータへの添加によって再溶解し得る形の被検体同族体を含み、上記被検体同族体は、被検体に対する親和性をもたない特異的結合対の1メンバーに共有

結合した、特異的結合パートナーに結合できる被検体を含んでなり、その被検体同族体は検出可能標識で標識化されている第2対置成分。

クロマトグラフィーメンバー、吸収体、障壁及び開口は、検出ゾーンが開口とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間に位置するように配置される。第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分の対置によってアプリケータが親和性膜と接触し、サンプル及び再溶解した被検体同族体が親和性膜に供給され、それから開口を通してクロマトグラフィーメジウムに供給されるように構成され

る。

クロマトグラフィーメジウムはさらに被検体に対する、または特異的結合パートナーに対する親和性に欠けた特異的結合対のメンバーのコントロールゾーンを含むことができ、アプリケーションはさらに、被検体同族体を標識化した標識とは区別できる第2検出可能標識で標識化した、コントロールゾーンに存在する特異的結合対のメンバーに結合する化合物も含むことができる。コントロールゾーンは開口とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間に位置する。クロマトグラフィーメジウムにコントロールゾーンが含まれる場合は、第1及び第2吸収体を両方共用いて、十分なサンプルがコントロールゾーンに供給されるようにするのが好適である。

標識被検体同族体を用いる競合的イムノアッセイの実施のための適した2成分装置が図9A及び図9Bに描かれる。2成分の配置は図9Aに示され、第1成分の線G-G'に沿って切られる断面は図9Bに示され、クロマトグラフィーメジウム、障壁、開口及び親和性膜の詳細を示す。装置(320)はヒンジ(326)によって結合した第1及び第2対置成分(322)、(324)からなる。第1及び第2対置成分(322)、(324)は係合のための係止部材(328)及び(330)を有し、ガスケットまたは隆起縁(332)が第1及び第2対置成分の周囲を取り巻き、サンプルまたは試薬類の漏れを防ぐ。第1対置成分(322)は第1及び第2端部(336)、(338)及び第1及び第2面(340)、(342)を有するクロマトグラフィーメジウム(334)も含む。クロマトグラフィーメジウム(334)は検出ゾーン(344)を、及び好適にはコントロールゾーン(346)も含む。第1対置成分は、クロマトグラフィーメ

ジウムの第1端部(336)と作動接触し、コントロールゾーン(346)よりも検出ゾーン(344)により近く位置する第1吸収体(348)、並びにクロマトグラフィーメジウム(334)の第2端部(338)と作動接触し、検出ゾーン(344)よりもコントロールゾーン(346)により近く位置する第2吸収体(350)をも含む。

第1対置成分(322)は、クロマトグラフィーメジウム(334)の第1面

(340)に隣接し、上記のように液体のクロマトグラフィーメジウム(334)への供給のための開口(354)を有する実質上液体不透過性障壁(352)をも含む。検出ゾーンは開口(354)とクロマトグラフィーメジウム(334)の第1端部(336)との間に位置する。コントロールゾーン(346)は、もしあるならば、開口(354)とクロマトグラフィーメジウム(334)の第2端部(338)との間に位置する。

第1対置成分(322)は障壁(352)に隣接する親和性膜をも含む。親和性膜(356)は対被検体-特異的結合パートナーを固定して含み、標識被検体同族体と試験サンプル中の遊離被検体とが、親和性膜(356)に存在する特異的結合パートナーを奪い合う。

第1対置成分にはクロマトグラフィーメジウム(334)を見ることができる窓(358)もある。

第2対置成分(324)は、再溶解し得る形の標識被検体同族体を入れるアプリケーションータ(360)を含む。コントロールゾーン(346)がクロマトグラフィーメジウム(334)にある場合は、アプリケーションータ(360)は第2の区別可能標識で標識化した第2の結合可能成分をも含む。

使用時に試験サンプルをアプリケーションータに入れ、標識被検体同族体及びもし存在するなら、第2の結合可能成分を再溶解する。それから第1及び第2対置成分(322)、(324)を対置させると、サンプルと再溶解した標識被検体同族体が親和性膜(356)に供給される。試験サンプル中に被検体が全くない場合には被検体同族体は全部親和性膜(356)に結合し、クロマトグラフィーメジウム(334)の検出ゾーン(344)には全く到達しない。試験サンプルに被検体が存在する場合、それは親和性膜(356)の特異的結合パートナーを標識

被検体同族体と奪い合い、その結果標識被検体同族体の若干はクロマトグラフィーメジウム(334)の検出ゾーン(344)に到達し、そこで結合し、検出可能信号を発現する。コントロールゾーン(346)がクロマトグラフィーメジウムに存在し、そして第2結合可能物質がアプリケーションータに供給される場合には、区別可能の標識をつけたその第2結合可能物質はコントロールゾーン(346)に



結合し、検定が正しく行われたことを証明する。

#### D. 異方性フロー装置

これまでに述べた装置はすべて各要素において等方性スプリットフローを用いてきた；すなわち液体を要素の中心に供給し、両方向に等しくまたは実質上等しく外側に流した。しかし、これは必要ない。そして1つ以上の要素の流れがその要素の中心から等しく両方向へ行かず、或いはその要素の両端部から中心の方へ行かず、要素の1端部から他の端部へ流れる本発明による検定装置を作ることができる。このような装置で、液体を要素全体を通して流して、完全再溶解を促進することが所望である場合には、試薬類、特に再溶解可能の試薬類を特別に効率的に使用することができる。

このような異方性フローを用いる本発明による1装置はサンドイッチイムノアッセイの実施に適する。この装置は次のものからなる：

(1) (a) 第1端部、第2端部、及び第1及び第2面を有し、その上に個々に離れて、重ならないように固定される

(i) 对被検体-特異的結合パートナーの検出ゾーンと

(ii) 被検体またはその同族体のコントロールゾーンとを有するクロマトグラフィーメジウムであって、各ゾーンの面積はそのクロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さく検出ゾーンはクロマトグラフィーメジウムの両端部から離れた地点とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間に位置し、コントロールゾーンはクロマトグラフィーメジウムの両端部から離れた地点とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間に位置するクロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触する吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体がクロマトグラ

フィーメジウムの面積より実質的に小さい第1供給領域を介してのみクロマトグラフィーメジウムに供給されるように置かれ、クロマトグラフィーメジウムの両端部から離れた地点に位置する第1の実質上液体不透過性障壁と；

(d) 第1障壁に隣接するアプリケーションタであって、对被検体-標識特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含み、障壁の後方に延び、液体をクロマトグラフ

イメジウムの第1供給領域に供給するアプリケータと；

(e) アプリケータに隣接し、クロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さい第2供給領域を通じてのみ液体をアプリケータに供給できるように配置され、クロマトグラフィーメジウムの第2端部に隣接して位置する第2の実質上液体不透過性障壁とからなる第1対置成分；

(2) 第2供給ゾーンを含む第2対置成分。

第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させるときサンプル調製ゾーンが第2障壁及び第2供給領域と接触するように構成される。そこで、サンプル調製領域にあるサンプルは第2供給領域を通してアプリケータに供給される。サンプルは実質上アプリケータの全長を移動し、サンプル及び再溶解した標識特異的結合パートナーは第1供給領域を通じてクロマトグラフィーメジウムに供給される。

サンドイッチイムノアッセイに適したこのような異方性フロー装置は図10A及び図10Bに描かれる。2成分の配置が図10Aに示され、第1成分の線H-H'に沿って切った断面が図10Bに示され、クロマトグラフィーメジウム、第1障壁、アプリケータ、及び第2障壁の詳細を示す。装置(370)はヒンジ(376)によって結合した第1及び第2対置成分(372)、(374)を示す。第1及び第2対置成分(372)、(374)は係止部材(378)及び(380)を有し、ガasket(382)によって取り囲まれている。第1対置成分(372)は第1及び第2端部(386)、(388)及び第1及び第2面(390)、(392)を有するクロマトグラフィーメジウム(384)を含む。クロマトグラフィーメジウム(384)は離れていて重ならない領域に検出ゾーン(394)と好適にはコントロールゾーン(396)とを固定して含む。検出ゾーン(394)は対被検体-特異的結合パートナーを含む。コントロール

ゾーン(396)は上記のように被検体またはその同族体を含む。検出ゾーン(394)はクロマトグラフィーメジウム(384)の両端部から離れた地点(397)とクロマトグラフィーメジウム(384)の第1端部(386)との間に位置し、コントロールゾーン(396)は地点(397)とクロマトグラフィー

メジウム (384) の第2端部 (388) との間に位置する。普通は、クロマトグラフィーメジウム (384) の両端部から離れた地点 (397) はクロマトグラフィーメジウムの中間点であり、検出ゾーン (394) 及びコントロールゾーン (396) はクロマトグラフィーメジウムの中間点から等距離にある。しかしこれは必要ない。

第1対置成分 (372) はさらにクロマトグラフィーメジウム (384) の第1端部 (386) と作動接触する第1吸収体 (398) を含み、もしコントロールゾーンが存在する場合は、第2吸収体 (400) がクロマトグラフィーメジウム (384) の第2端部 (388) と作動接触することができる。しかしこの第2吸収体は必要なく、すべての用途に存在する必要はない。

第1対置成分 (372) はクロマトグラフィーメジウム (384) の第1面 (390) に隣接する第1の実質上液体不透過性障壁 (402) をも含む。第1障壁 (402) が置かれ、液体は、クロマトグラフィーメジウム (384) の面積より実質的に小さい第1供給領域 (404) を通ってのみクロマトグラフィーメジウム (384) に供給される。第1供給領域 (404) は地点 (397) の位置である。普通は第1供給領域 (404) はクロマトグラフィーメジウム (384) の中間点に位置する。第1対置成分 (372) には、第1障壁 (402) に隣接し、第1障壁 (402) の後方に延びて第1供給領域 (404) を介して液体をクロマトグラフィーメジウム (384) に供給するアプリケータ (406) も存在する。アプリケータ (406) は対被検体-標識特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含む。

第1対置成分 (372) はアプリケータ (406) に隣接する第2の実質上液体不透過性障壁 (408) をも含む。液体は、クロマトグラフィーメジウム (384) より実質的に面積が小さく、クロマトグラフィーメジウム (384) の第2端部 (388) に隣接する第2供給領域 (410) のみを介してアプリケータ

(406) に供給される。第1対置成分 (372) はクロマトグラフィーメジウム (384) を見ることができる窓 (412) をも含む。

第2対置成分 (374) にはサンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含

むサンプル調製ゾーン（414）がある。

使用時にサンプルを第2対置成分のサンプル調製ゾーン（414）に供給する。第1及び第2対置成分（372）、（374）をその後対置させ、試験サンプルは第2供給領域（410）を通過してアプリータ（406）に運ばれる。アプリータ（406）に運搬されたサンプルはアプリータ（406）の標識特異的結合パートナーを再溶解し、それから実質上アプリータ（406）の全長を移動してサンプル及び再溶解した標識特異的結合パートナーを第1供給領域（404）を介してクロマトグラフィーメジウム（384）に供給する。その後被検体のクロマトグラフィー及び検出が上記と同様に行われる。多くの要素においてフローは等方性でないとはいえ、クロマトグラフィーメジウムそのものにおけるフローは実際上等方性であることに注目すべきである。

#### E. 被検体のクロマトグラフィーメジウムへの直接吸収を利用する装置

若干の抗原は、イムノアッセイの固相に一般的に用いられる材料、例えばナイロンなどに、強固に、非特異的に結合する。これらの抗原は親水性傾向を有する；例えばトラコーマ・クラミジア (*Chlamdia trachomatis*) リポ多糖体 (LPS) 抗原類及びその他の複合脂質類など。このような抗原は本発明による検定装置によってクロマトグラフィーメジウムに結合することができ、その後適した標識特異的結合パートナー、例えばその抗原に対する標識抗体で検出される。これは単純抗体イムノアッセイであり、サンドイッチイムノアッセイではない。要するに、クロマトグラフィーメジウムそのものが従来のサンドイッチイムノアッセイにおける第1抗体の代わりをする。

クロマトグラフィーメジウム上の被検体の直接固定を含む検定の実施に適した本発明による検定装置は次のものからなる：

(1) (a) 第1及び第2端部と第1及び第2面とを有し、被検体に対し、その被検体を含む水溶液から被検体をクロマトグラフィーメジウム上に固定するのに十分な親和性を有する平らなクロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するアプリータであって、対被検体-標識特異的結合パートナーを、水性液体をそのアプリータ

に添加することにより再溶解し得る形で含むアプリケータと；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する吸収体と；

(d) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をそのクロマトグラフィーメジウムに供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、上記開口は障壁より面積が小さく、そのため液体は障壁に覆われた領域のクロマトグラフィーメジウムに、その開口を通じてのみはいることができる液体不透過性障壁；とを含む第1対置成分と；

(2) サンプル調製ゾーンを含む第2対置成分。

この装置において第1及び第2対置成分は、第1及び第2対置成分を対置させるときサンプル調製ゾーンが障壁と接触し、サンプル調製ゾーンのサンプルがクロマトグラフィーメジウムに供給されるように構成される。試験サンプル中の被検体は開口近くのクロマトグラフィーメジウムに固定される。この装置において、本発明によるこれまでの装置とは異なり、クロマトグラフィーメジウムそのものにおける流れはメジウムの1端部から他端部に流れ、メジウム両端部から離れた地点から各端部へ流れることはない。

抗原がリポ多糖体である場合はクロマトグラフィーメジウムそのものはナイロンでよい。

被検体のクロマトグラフィーメジウムへの結合を含めた検定に適した装置は図11A及び図11Bに描かれる。図11Aは装置の2成分の配置を示す。図11Bは第1成分の線I-I'に沿って切った断面を示し、クロマトグラフィーメジウム、アプリケータ、障壁及び開口の詳細を示す。検定装置(420)はヒンジ(426)によって結合した第1及び第2対置成分(422)、(424)を有する。第1及び第2対置成分は係止部材(428)、(430)を含み、それらを対置させるときガスケット(432)が第1及び第2対置成分(422)、(424)の周囲を取り巻く。第1対置成分(422)には第1端部(436)及び第2端部(438)を有するクロマトグラフィーメジウム(434)がある。クロマトグラフィーメジウム(434)は第1面(440)及び第2面(4

42)を有する。第1対置成分(422)はクロマトグラフィーメジウム(43

4) の第1端部(436)と作動接触するアプリケータ(444)及びクロマトグラフィーメジウム(434)の第2端部(438)と作動接触する吸収体(446)をも含む。第1対置成分(422)は、クロマトグラフィーメジウムの第1面(442)に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウム(434)に供給するための開口(450)を有する実質上液体不透過性障壁(448)をも含む。好適には第1対置成分はクロマトグラフィーメジウム(434)を見るための、クロマトグラフィーメジウム(434)の第2面(444)に隣接する窓(452)をも含む。

第2対置成分(424)はサンプル調製ゾーン(454)を含む。

使用時に、サンプルを第2対置成分(424)のサンプル調製ゾーン(454)に与え、水性液体をアプリケータ(444)に添加する。アプリケータの標識特異的結合パートナーは溶解する。第1及び第2対置成分(422)磨i424)をその後対置させると、試験サンプルは障壁(448)の開口(450)からクロマトグラフィーメジウム(434)に供給される。その後サンプル中のすべての被検体は開口近くのクロマトグラフィーメジウム(434)に結合する。再溶解した標識特異的結合パートナーはクロマトグラフィーメジウム(434)を通過して第1端部(436)から第2端部(438)の方へ流れる。標識特異的結合パートナーはクロマトグラフィーメジウム(434)に結合した被検体と反応し、検出できる。この場合検出ゾーンは、実際には障壁(448)の開口(450)付近のクロマトグラフィーメジウム(434)に結合する被検体によって形成される。

## II. 連続免疫クロマトグラフィー

若干の用途、特に血清学的検定では、捕捉段階、すなわち固体支持体に固定された対被検体-特異的結合パートナーによる捕捉段階は標識段階の前にある。例えばヒト血清中のピロリ菌 (Helicobacter pylori) に対するIgG抗体を検出するための免疫クロマトグラフィー検定では、血清を固相クロマトグラフィーメジウムに固定したピロリ菌抗原帯上を流す。血清中の特異的IgGは固定抗原に結合す

る。非特異的 I g G を含む血清を回収した後、検出可能標識、例えば可視色素（結合体）などで標識した抗ヒト I g G を抗原バンド上を移動させ、結合 I g G すべてを検出可能標識で標識化する。

従来の1段階線型クロマトグラフィー検定は、時間のかかる不便な洗浄段階を処理法に組み込まない限り、適切でない。もしこのような洗浄段階を組み込まないならば、ピロリ菌に非特異的なヒト I g G の過剰量とその結合体と反応する。これはクロマトグラフィーメジウムにおいて標識のバックグラウンドを高め、固定ピロリ菌抗原に結合した抗ピロリ菌抗体と反応する機会をもつ前に結合体は消耗してしまうであろう。

検出すべき抗体とクロマトグラフィーメジウム上に固定された対応する被検体との反応を先ず完了させるような連続イムノアッセイを実施できるクロマトグラフィー検定装置を提供することが所望である。それから第2段階で標識結合体を供給して被検体、例えば抗ピロリ菌抗体などを検出する。

連続イムノアッセイを実施するための適した装置は次のものからなる：

(1) (a) クロマトグラフィーメジウムの面積より実質的に小さい検出ゾーンに固定した対被検体—特異的結合パートナーを有する上記のような平らなクロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するサンプル調製ゾーンと；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する第1吸収体と；

(d) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための障壁を貫通する開口を有する実質上液体不透過性の障壁であって、その開口は障壁より面積が小さく、そのため液体は障壁に覆われたクロマトグラフィーメジウム領域にその開口を介してのみ入ることができる障壁；とを含んでなる第1対置成分と；

(2) (a) 再溶解可能な形の対被検体—特異的結合パートナーを含むアプリケーションータであって、第1及び第2対置成分を対置させるときそのアプリケーションータは障壁と接触し、再溶解した対被検体—標識特異的結合パートナーが障壁の開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給されるように置かれたアプリケーションータと；

(b) 第1及び第2対置成分を対置させるとき、第2吸収体が障壁とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間のクロマトグラフィーメジウム部分と作動接触し、第3吸収体が障壁とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間のクロマトグラフィーメジウム部分と作動接触し、第2及び第3吸収体が液体をクロマトグラフィーメジウムから取り出すような位置に置かれた第2及び第3吸収体とを含んでなる第2対置成分。

そこで第1及び第2対置成分を対置させるとき液体の流れは障壁の開口から外側へクロマトグラフィーメジウムに沿って両方向に第2及び第3吸収体に流れる。

この検定装置は上記のようにクロマトグラフィーメジウムの第2面に隣接する実質上透明な裏打ちをさらに含むのが普通である。

サンプル調製ゾーンは上記のように、サンプルをクロマトグラフィーメジウムに供給する前にサンプルを処理するための少なくとも1つの試薬を含む。サンプル調製ゾーンが第2対置成分にある本発明によるその他の上記装置とは異なり、この装置ではサンプルのクロマトグラフィーメジウムへの供給は第1及び第2対置成分を対置させないうちに起きる。これによってサンプル処理のために用いるいかなる試薬の濃度も調節される。

クロマトグラフィーメジウムは、クロマトグラフィーメジウムより実質的に小さい面積を有し、検出ゾーンと重ならない、クロマトグラフィーメジウム上に被検体またはその同族体を固定したコントロールゾーンをさらに含むことができる。クロマトグラフィーメジウムが検出ゾーンもコントロールゾーンも含むとき、検出ゾーンは開口とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間に位置する。コントロールゾーンは開口とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間に位置する。検出ゾーンが開口と、第2吸収体と接触するクロマトグラフィーメジウム部分との間にあり、コントロールゾーンが開口と第3吸収体と接触するクロマトグラフィーメジウム部分との間にあり、十分な量の再溶解した標識特異的結合パートナーが検出及びコントロール両領域に確実に達するのが好適である。

この装置は図12A及び図12Bに描かれる。図12Aは装置の2成分の配置を示し、図12Bは第1成分の線J-J'に沿った断面を示し、クロマトグラ



フィーメジウム、アプリケータ、第1吸収体、障壁及び開口の詳細を示す。検定装置(460)はヒンジ(466)によって結合した第1対置成分(462)及び第2対置成分(464)を有する。第1及び第2対置成分は係止部材(468)及び(470)を含み、両成分が対置したときガスケット(472)が第1及び第2対置成分(462)及び(464)の周囲を取り巻く。第1対置成分(462)は第1端部(476)及び第2端部(478)及び第1及び第2面(480)、(482)を有する実質上平らなクロマトグラフィーメジウム(474)を含む。クロマトグラフィーメジウムは対被検体-標識結合パートナーを含む検出ゾーン(484)及び任意に、固定被検体を含むコントロールゾーン(486)をも含む。

第1対置成分(462)はクロマトグラフィーメジウム(474)の第1端部(476)と作動接触するサンプル調製ゾーン(488)をも含む。サンプル調製ゾーン(488)は上記のように、サンプル処理のための少なくとも1つの試薬を含むことができる。第1対置成分(462)はクロマトグラフィーメジウム(474)の第2端部(478)と作動接触する第1吸収体をも含む。

第1対置成分(462)はさらにクロマトグラフィーメジウム(474)の第1面(480)に隣接する実質上液体不透過性障壁(492)を含む。障壁(492)は液体をクロマトグラフィーメジウム(474)に与えるための開口(494)を有する。その開口(494)は面積が障壁(492)の面積より実質上小さく、そのため液体はその開口(494)を通過のみクロマトグラフィーメジウム(474)の障壁(492)に覆われた領域に入ることができる。しかしこの装置では液体はサンプル調製ゾーン(488)からクロマトグラフィーメジウム(474)の第1端部(476)に入ることもできる。

第1対置成分はクロマトグラフィーメジウム(474)を見るためのクロマトグラフィーメジウム(474)の第2面(482)に隣接する窓(496)をも含む。

第2対置成分(464)は対被検体-特異的結合パートナーを再溶解可能の形で含むアプリケータ(498)を含む。アプリケータ(498)は、第1及び第2対置成分(462)、(464)を対置させるとき、アプリケータ(4

98) が障壁 (492) と接触し、再溶解可能の標識特異的結合パートナーが障壁 (492) の開口 (494) を通ってクロマトグラフィーメジウム (474) に供給されるように配置される。第2対置成分 (464) は第2及び第3吸収体 (500) 及び (502) をも含み、それらは第1及び第2対置成分を対置させるとき、第2吸収体 (500) がクロマトグラフィーメジウム (474) 上の障壁 (492) とクロマトグラフィーメジウム (474) の第1端部 (476) との間の部分 (504) と作動接触し、第3吸収体 (502) がクロマトグラフィーメジウム (474) 上の障壁 (492) とクロマトグラフィーメジウム (474) の第2端部 (478) との間の部分 (506) と作動接触するように配置される。この結果第2及び第3吸収体 (500)、(502) はクロマトグラフィーメジウム (474) から液体を取り出すことができる。

使用時にはサンプルをサンプル調製ゾーン (480) に供給し、そのサンプルは検出ゾーン (476) を含めたクロマトグラフィーメジウム (466) を移動する。その後水性液体を第2対置成分 (464) のアプリーケーター (488) に加え、対被検体-標識特異的結合パートナーを再溶解させる。第1及び第2対置成分 (462)、(464) をその後対置させ、再溶解した標識特異的結合パートナーは障壁 (484) の開口 (486) に供給される。同時に、第2及び第3吸収体 (490)、(492) がクロマトグラフィーメジウム (466) に適用され、クロマトグラフィーメジウム (466) から液体を取り出す。被検体が試験サンプル中に存在する場合は、その被検体を検出するための検出ゾーン (476) に3成分コンプレックスが形成される。

### III. 増幅免疫クロマトグラフィー

本発明のもう一つの面は、増幅免疫クロマトグラフィーを実施する装置である。このような装置はコロイド金着色を銀で増幅するものである。

#### A. 銀増幅の原理

銀を用いて特異的結合反応に関係する化合物、すなわち抗原、ハプテン、抗体または抗体断片などの特異的結合パートナー、の標識としてのコロイド金を増幅することができる。金は可溶性銀塩から金属銀への還元を触媒することができる。

る。その結果金を取り巻く銀の殻が生じ、より大きい面積が見えるようになる。これは検出ゾーンで三成分コンプレックスに結合している信号を増幅する。可溶性銀塩は好適には乳酸銀である。還元剤は普通はキノン、例えばヒドロキノンなどである。

#### B. 銀増幅を用いる装置

本発明は銀増幅を用いる装置を2種類含む。第1型の装置は第1対置成分上でサンプル調製ゾーンに隣接して再溶解可能の形で組み込まれた金ゾル標識特異的結合パートナーを含む。この装置では、第2対置成分には可溶性銀塩と還元剤とを含むアプリーケーターがある。第2型の装置は、特に、スワブのサンプル中の被検体の確認に用いられる。この装置ではスワブは第2対置成分に挿入され、可溶性銀塩及び還元剤はこの装置に置かれるインサートによって提供される。

##### 1. 第2対置成分上のアプリーケーターに銀塩を挿入した装置

銀増幅を用いる第一の装置は第2対置成分のアプリーケーターに可溶性銀塩と還元剤とを含む。この装置は次のものからなる：

(1) 下記のものを含む第1対置成分： (a) 第1端部と第2端部と頭頂面及び底面を有する平らなクロマトグラフィーメジウムであって、上記のようにその上の検出ゾーンに対被検体—特異的結合パートナーを固定して含むクロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第2端部と作動接触する吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するコンダクターと；

；

(d) 金ゾルで標識した対被検体—特異的結合パートナーを、水性液体を結合ゾーンへ添加することによって再溶解し得る形で含む結合ゾーンであって、コンダクタと直接接触し、クロマトグラフィーメジウムの第1端部と間接的に接触する結合ゾーン；

(e) 試験サンプルを供給するためのサンプル調製ゾーンであって、サンプル調製ゾーンは結合ゾーンと直接接触し、コンダクタと結合ゾーンとサンプル調製ゾーンとが、結合ゾーンがサンプル調製ゾーンとコンダクタとを架橋するように配置されるサンプル調製ゾーンと；

(f) クロマトグラフィーメジウムの第2面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに適用するための開口を有する実質上液体不透過性障壁；

(2) 下記のものを含む第2対置成分：

(a) アプリケーターに水性液体を加えることによって再溶解し得る形で (i) 可溶性銀塩及び (ii) 還元剤を含むアプリケーターであって、第1及び第2対置成分を対置させるとき、アプリケーターは障壁と接触し、再溶解した銀塩及び還元剤が障壁の開口を通過してクロマトグラフィーメジウムに適用されるようになっているアプリケーター；

(b) 第1及び第2対置成分を対置させるとき、吸収体がクロマトグラフィーメジウム上の、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間の部分に作動接触し、第3吸収体がクロマトグラフィーメジウム上の、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間の部分に作動接触し、第2及び第3吸収体が液体をクロマトグラフィーメジウムから取り出すように配置される第2及び第3吸収体。

この装置は図13A及び図13Bに示される。図13Aは装置の2成分の配置を示す。図13Bは第1成分の線K-K'に沿う断面図であり、クロマトグラフィーメジウム、コンダクタ、結合ゾーン、サンプル調製ゾーン、第1吸収体、障壁及び開口の詳細を示す。装置(520)はヒンジ(526)によって結合した第1対置成分及び第2対置成分(524)を有する。第1及び第2対置成分(522)及び(524)は係止部材(528)及び(530)のなどの係合部材を有し、両成分を対置させるとき、それらを固定し、第1及び第2対置成分(522)及び(524)を対置させるとき、ガスケット(532)がそれら成分を取り巻く。

第1対置成分(522)はクロマトグラフィーメジウム(534)を有する。クロマトグラフィーメジウム(534)は第1及び第2端部(536)、(538)及び第1及び第2面(540)、(542)を有する。クロマトグラフィーメジウム(534)はクロマトグラフィーメジウム(534)の面積より実質上小さい検出ゾーン(544)を有する。検出ゾーンは対被検体-特異的結合パートナーを固定して含む。

第1対置成分(522)は、クロマトグラフィーメジウム(532)の第2端部(536)と作動接触する吸収体(546)と、クロマトグラフィーメジウム(534)の第1端部(536)と作動接触するコンダクタ(548)も含む。

第1対置成分(522)は結合ゾーン(550)も含み、その結合ゾーンは金ゾルで標識した対被検体—特異的結合パートナーを、結合ゾーン(550)への水性液体添加によって再溶解し得る形で含む。結合ゾーン(550)はコンダクタ(548)と直接接触し、クロマトグラフィーメジウム(534)の第1端部(536)と間接的に接触する。

第1対置成分(522)は試験サンプル適用のためのサンプル調製ゾーン(552)も含む。サンプル調製ゾーン(552)は結合ゾーン(550)と直接接触する。コンダクタ(548)、結合ゾーン(550)及びサンプル調製ゾーン(552)は、結合ゾーン(550)がサンプル調製ゾーン(552)とコンダクタ(548)を架橋するように第1対置成分(522)上に配置される。

第1対置成分(522)はクロマトグラフィーメジウム(534)の第1面に隣接する実質上液体不透過性障壁(554)も含む。障壁(554)はクロマトグラフィーメジウム(534)に液体を供給するための開口(556)を有する。開口(556)は障壁(554)の面積より実質的に小さく、したがって障壁(554)に覆われたクロマトグラフィーメジウム(534)の領域へは開口(556)を通過してのみ入ることができる。しかしこの装置では液体は、コンダクタ(548)を通過してクロマトグラフィーメジウム(534)に入ることもできる。

第1対置成分(522)には、クロマトグラフィーメジウム(534)を見るための、クロマトグラフィーメジウム(534)の第2面(542)に隣接する窓(558)もある。

第2対置成分(524)は増幅ゾーン(562)を含むアプリケーター(560)を含む。増幅ゾーン(562)は、アプリケーター(556)に水性液体を加えることによって再溶解し得る形で：(1)可溶性銀塩及び(2)還元剤を含む。アプリケーター(560)は、第1及び第2対置成分(522)、(524)を対置させるとき、アプリケーター(560)は障壁(554)と接触し、増

幅ゾーン（562）の再溶解した銀塩及び還元剤が障壁（554）の開口（556）を通過してクロマトグラフィーメジウム（534）に供給される。第2対置成分（524）は第2及び第3吸収体（564）、（566）をも含む。第2及び第3吸収体（564）、（566）は、第1及び第2対置成分（522）、（524）を対置させるとき、第2吸収体（564）がクロマトグラフィーメジウム（534）上の、障壁（554）とクロマトグラフィーメジウム（534）の第1端部（536）との間の部分（568）と作動接触し、第3吸収体（566）がクロマトグラフィーメジウム（534）上の、障壁（554）とクロマトグラフィーメジウムの第2端部（538）との間の部分（570）と作動接触するように配置される。こうして第2及び第3吸収体（564）、（566）は液体をクロマトグラフィーメジウムから取り出す。

使用時には、サンプルを装置（520）のサンプル調製ゾーン（552）に供給する。サンプルは結合ゾーン（550）を通過して流れ、結合ゾーン（550）中の標識特異的結合パートナーを再溶解する。サンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーはその後コンダクタ（548）を通過してクロマトグラフィーメジウム（534）に入り、クロマトグラフィーメジウム（534）の少なくとも検出ゾーン（544）を含む部分を通過して流れる。水性液体をその後第2対置成分（524）上のアプリーケーター（560）に加え、増幅ゾーン（562）の可溶性銀塩及び還元剤を再溶解させる。第1及び第2対置成分（522）、（524）をその後対置させ、再溶解した銀塩及び還元剤を障壁（554）の開口（556）を介してクロマトグラフィーメジウム（534）に供給し、第2及び第3吸収体（564）、（566）をクロマトグラフィーメジウム（534）の2つの部分（568）及び（570）と作動接触させ、クロマトグラフィーメジウムから液体を引き出す。再溶解した銀塩及び還元剤はその後クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーン（544）を含む部分を通過して流し、標識特異的結合パートナーの金標識の金の周囲に銀を沈着させる。こうして検出ゾーン（544）に結合した三成分コンプレックスは銀を結合して有し、信号を増幅する。

## 2. 洗浄を行うための2領域アプリーケーターを有する装置

金ゾルによって生成した信号の銀増幅を行う本発明による検定装置のもう一つの変形型は、水性銀塩及び還元剤をクロマトグラフィーメジウムに供給する前にクロマトグラフィーメジウムを洗浄するために2つの領域を有する。

この装置は次のものからなる：

(1) 下記のものを含む第1対置成分：

(a) 第1端部、第2端部、第1及び第2面、及び上記のように対被検体一特異的結合パートナーをもつ検出ゾーンを有するクロマトグラフィーメジウムと；

(b) クロマトグラフィーメジウムの第2面と作動接触する吸収体と；

(c) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するコンダクタと；

(d) 結合ゾーンに水性液体を加えることによって再溶解し得る、金ゾルで標識化した対被検体一特異的結合パートナーを含む結合ゾーンであって、コンダクタに直接接触し、クロマトグラフィーメジウムの第1端部と間接的に接触する結合ゾーンと；

(e) 試験サンプルを供給するためのサンプル調製ゾーンであって、サンプル調製ゾーンは結合ゾーンと直接接触し、コンダクタと結合ゾーンとサンプル調製ゾーンとが、結合ゾーンがサンプル調製ゾーンとコンダクタとを架橋するように配置されるサンプル調製ゾーンと；

(f) クロマトグラフィーメジウムの頭頂面に隣接する実質上液体不透過性障壁であって、上記のようにこの障壁の面積より実質的に小さい面積の開口を有する障壁；

(2) 下記のものを含む第2対置成分：

(a) 2領域：(i) 水性液体を受け取るための第1領域、及び(ii) 再溶解し得る形の可溶性銀塩と還元剤とを含む第2領域を含むアプリケーションタと；

(b) 第2及び第3吸収体。

アプリケーションターは、第1及び第2対置成分を対置させるとき、アプリケーションターの第1領域が障壁の開口と直接接触し、アプリケーションターの第2領域が開口と間接的に接触し、その結果水性液体は先ず最初にクロマトグラフィーメジウムに供給されて洗浄し、その後水性銀塩及び還元剤が供給されるように配置される。第2及び第3吸収体は、第1及び第2対置成分を対置させるとき、第2吸収体がクロ

マトグラフィーメジウム上の障壁とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間の部分と作動接触し、第3吸収体がクロマトグラフィーメジウム上の障壁とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間の部分と作動接触し、第2及び第3吸収体がクロマトグラフィーメジウムから液体を取り出すように配置される。

この装置は図14A及び14Bに示される。図14Aは装置の2成分の配置を示し、図14Bは第1成分の線L-L'に沿った断面図を示し、クロマトグラフィーメジウム、そのクロマトグラフィーメジウムに直接または間接に接触する諸要素、障壁及び開口を詳細に説明する。クロマトグラフィー検定装置(580)はヒンジ(586)によって結合した第1対置成分(582)及び第2対置成分(584)を有する。第1及び第2対置成分(582)、(584)は対置成分と一緒に固定する係止部材ク(588)、(590)のような係合部材を有する。第1及び第2対置成分(582)、(584)が対置するとき、ガスケット(592)がそれら(582)、(584)の周囲を取り巻く。

第1対置成分(582)には第1及び第2端部(596)、(598)及び第1及び第2面(600)、(602)を有するクロマトグラフィーメジウム(594)がある。クロマトグラフィーメジウム(594)は対被検体-特異的結合パートナーを固定して含む検出ゾーン(604)を有する。検出ゾーン(604)は面積がクロマトグラフィーメジウム(594)の面積より実質的に小さい。

第1対置成分(582)はクロマトグラフィーメジウム(594)の第2端部と作動接触する吸収体(606)と、クロマトグラフィーメジウム(594)の第1端部(596)と作動接触するコンダクタ(608)をも含む。第1対置成分は金ゾルで標識した対被検体-特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含む結合ゾーン(610)をも含む。結合ゾーン(610)はコンダクタ(608)と直接接触し、クロマトグラフィーメジウム(594)の第1端部(596)と間接的に接触する。

第1対置成分(582)は試験サンプル供給のためのサンプル調製ゾーン(612)をも含む。サンプル調製ゾーン(612)は結合ゾーン(610)と直接接触する。サンプル調製ゾーン(612)はサンプル処理のための最低1つの試



薬を含むことができる。コンダクタ（608）、結合ゾーン（610）及びサンプル調製ゾーン（612）は、結合ゾーン（610）がサンプル調製ゾーン（612）とコンダクタ（608）とを架橋するように配置される。

第1対置成分（582）はクロマトグラフィーメジウム（594）の第1面（600）に隣接する実質上液体不透過性障壁をも含む。障壁（614）は液体をクロマトグラフィーメジウム（594）に供給するための障壁を通過する開口（616）を有する。開口（616）は面積が障壁（614）の面積より実質的に小さく、したがって液体はその開口を通じてのみ障壁（614）に隣接するクロマトグラフィーメジウム（594）部分に入ることができる。

第1対置成分（582）はクロマトグラフィーメジウム（594）を見るためのクロマトグラフィーメジウム（594）の第2面（602）に隣接する窓（618）をも含む。

第2対置成分（584）は次の2つの領域を含むアプリーケーター（620）を含む：（1）水性液体を受け取るための第1領域（622）；及び（2）可溶性銀塩及び還元剤を再溶解可能な形で含む第2領域（624）。アプリーケーター（620）は、第1及び第2対置成分（582）、（584）を対置させるとき、アプリーケーター（620）の第1領域（622）が障壁（614）の開口（616）と直接接触し、アプリーケーター（620）の第2領域（624）が開口（616）と間接接触し、そこで水性液体が先ずクロマトグラフィーメジウム（594）に供給されて洗浄し、その後再溶解した銀塩及び還元剤が供給される。第2対置成分（584）は第2吸収体（626）及び第3吸収体（628）をも含む。第1及び第2吸収体（626）、（628）は、第1及び第2対置成分（582）、（584）が対置するとき、第2吸収体（626）がクロマトグラフィーメジウム（630）の、障壁（614）とクロマトグラフィーメジウム（594）の第1端部との間の部分（630）と作動接触し、第3吸収体（628）がクロマトグラフィーメジウムの、障壁（614）とクロマトグラフィーメジウム（594）の第2端部との間の部分（632）と作動接触するように配置され、この結果第2及び第3吸収体（626）、（628）はクロマトグラフィーメジウム（594）から液体を取り出すことができる。

使用時にはサンプルが装置（580）のサンプル調製ゾーン（610）に供給される。サンプルは結合ゾーン（608）を流れて、結合ゾーン（608）にある対被検体-標識特異的結合パートナーを再溶解する。サンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーはその後コンダクタ（606）を流れてクロマトグラフィーメジウム（592）に入り、クロマトグラフィーメジウム（592）の少なくとも検出ゾーン（602）を含める部分を通って流れる。この結果試験サンプル中に存在する被検体と、検出ゾーン（602）に固定された特異的結合パートナーとの間で2成分コンプレックスが形成される。それから水性液体をアプリータ（616）の第1及び第2領域（618）、（620）に加える。これはアプリータ（616）の第2領域にある可溶性銀塩及び還元剤を再溶解する。第1及び第2対置成分（582）及び（584）をその後対置させると、アプリータ（616）の第1領域（618）の水性液体が開口（614）を流れて洗浄液としてクロマトグラフィーメジウム（592）に供給され、それに続いて再溶解した銀塩及び還元剤がクロマトグラフィーメジウム（592）に供給される。これはまた、第2及び第3吸収体（622）及び（624）をクロマトグラフィーメジウム（592）の2部分（626）及び（628）と作動接触させ、クロマトグラフィーメジウム（592）から液体を引き出す。再溶解した銀塩及び還元剤はその後クロマトグラフィーメジウム（592）の少なくとも検出ゾーン（602）を含めた部分を通って流れ、銀を金標識の金の周辺に沈着させ、信号を高める。

### 3. ベースパネル及びインサートを有する装置

増幅免疫クロマトグラフィーの実施に適した本発明によるもう一つの装置は2つの個々の部材に分けられる：ベースパネル及びインサート。インサートは可溶性銀塩及び還元剤の供給のためのアプリータを含める。

この装置は次のものからなる：

(1) 下記のものを含むベースパネル：

(a) 下記のものを含む第1対置成分：

(i) 第1端部及び第2端部、第1及び第2面を有し、上記のような検出ゾーンに固定された対被検体-特異的結合パートナーを有する平らなクロマトグラ

フィーメジウム；

(ii) 金ゾルで標識した対被検体-特異的結合パートナーを再溶解可能の形で含む結合ゾーンであって麻Nロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触する結合ゾーン；

(iii) 結合ゾーンと作動接触するコンダクタであって、結合ゾーンはクロマトグラフィーメジウムの第1端部及びコンダクタに達しているコンダクタ；

(iv) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、上記のように液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁；

(b) 下記のものを含む第2対置成分：

(i) 試験サンプルを含むスワブの収容部；

(ii) スワブに最低1つの試薬を与えるためのウェル；

(iii) 収容部及びウェルから分離した第1吸収体；

(c) インサートの、及び第1及び第2対置成分の面の相対的動きに対してインサートを安定に保持するための収容部；

(2) 下記のものを含むインサート：

(a) 可溶性銀塩及び還元剤を再溶解可能の形で含むアプリケータ；(b) 第2吸収体；

(c) 第3吸収体；及び

(d) ベースパネルの収容部に入れるための突出部。

ベースパネルの第1及び第2対置成分は、

それらを対置させるとき、第1吸収体がクロマトグラフィー上の障壁とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間の部分と接触し、容器がコンダクタと接触するようになっている。インサートはインサートの突出部がベースパネルの収容部に挿入されるとき、アプリケータが開口と作動接触し、第2吸収体がクロマトグラフィーメジウム上の障壁とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間の部分と作動接触し、第3吸収体はクロマトグラフィーメジウム上の障壁とクロマトグラフィーメジウム第2端部との間の部分と作動接触するように構成される。

インサートを固定する收容部は、ベースパネルの第1または第2対置成分のいずれにあってもよい。或いは、上記の2成分装置類のように普通はヒンジによって結合しているベースパネルの第1及び第2対置成分の間に位置することもできる。

ベースパネル及びインサートからなる装置を図15A及び図15Bに示す。図15Aはインサートと一緒にになったベースパネルの2成分の配列を示す、そして図15Bはベースパネルの第1成分の線M-M'にそった断面を示し、クロマトグラフィーメジウム、クロマトグラフィーメジウムと直接または間接的に接触する諸要素、障壁及び開口の詳細を示す。装置(640)はベースパネル(642)及びインサート(644)からなる。ベースパネル(642)はヒンジ(650)で結合した第1対置成分(646)及び第2対置成分(648)からなる。

ベースパネル(642)の第1対置成分(646)はクロマトグラフィーメジウム(656)を含む。クロマトグラフィーメジウム(656)は第1及び第2端部(658)、(660)及び第1及び第2面(662)、(664)を有する。クロマトグラフィーメジウム(656)は上記のように、さらに対被検体一特異的結合パートナーを固定して含む検出ゾーン(666)を組み込む。

ベースパネル(642)の第1対置成分(646)は金ゾルで標識化した対被検体一特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含む結合ゾーン(668)を含める。結合ゾーン(668)はクロマトグラフィーメジウムの第1端部(658)と作動接触する。ベースパネル(642)の第1対置成分はさらに結合ゾーン(668)と作動接触するコンダクタ(670)を含める。結合ゾーン(668)はクロマトグラフィーメジウム(658)の第1端部とコンダクタ(670)とを架橋する。

第1対置成分(646)は、クロマトグラフィーメジウム(656)の第1面(662)に隣接し、そのクロマトグラフィーメジウム(656)に液体を供給するための開口(674)を有する実質上液体不透過性障壁(672)をも含める。開口(674)は障壁(672)の面積より小さく、そのため液体はその開口(674)を通過のみクロマトグラフィーメジウム(656)の、障壁(6

72) に隣接する領域に入ることができる。

ベースパネル (642) の第1対置成分 (646) はクロマトグラフィーメジウムを見るための窓 (676) をも含む。

ベースパネル (642) の第2対置成分 (648) は、試験サンプルを含むスワブのための第1収容部 (678)、そのスワブに最低1つの抽出試薬を添加するためのウェル (680) 及び、収容部 (678) 及びウェル (680) から分離した第1吸収体 (682) を含める。ベースパネル (642) の第1及び第2対置成分 (646)、(648) はそれらを対置させるとき、第1吸収体 (682) がクロマトグラフィーメジウム上の障壁 (672) とクロマトグラフィーメジウム (656) の第2端部 (660) との間の部分と接触し、第1収容部 (678) がコンダクター (670) と接触するように構成される。ベースパネル (642) はさらにインサート (644) のための第2収容部 (686) を含む。

第1及び第2対置成分 (646)、(648) は、係合部材 (688)、例えば剥離可能のラベル、ベルクロ™ (Velcro™) ファスナー、またはその他のリバーシブル閉鎖物によって結合することができる。

インサート (644) は可溶性銀塩と還元剤とを再溶解可能な形で含むアプリケーション (690) を含める。インサート (644) はさらに第2吸収体 (692) 及び第3吸収体 (694)、並びにベースパネル (642) の第2収容部 (686) に挿入するための突出部 (696) を含める。インサート (644) は、突出部 (696) をベースパネルの第2収容部 (686) に挿入するとき、アプリケーション (690) が開口 (674) と作動接触し、アプリケーション (690) の内容物が開口 (674) を介してクロマトグラフィーメジウム (656) に供給されるように構成される。第2吸収体 (692) はクロマトグラフィーメジウム (656) の、障壁 (672) とクロマトグラフィーメジウム (656) 第1端部 (658) との間の部分 (698) と作動接触する。第3吸収体 (694) はクロマトグラフィーメジウムの、障壁 (672) とクロマトグラフィーメジウム (656) 第2端部 (660) との間の部分 (682) と作動接触する；すなわち第3吸収体 (694) は、第1及び第2対置成分を、インサート (644) の挿入前に対置させるたときの第1吸収体 (682) と同じ位置にある。

インサート(644)を突出部(696)によって第2收容部(686)に挿入し、インサート(644)及びベースパネル(642)の第1及び第2対置成分(646)、(648)の面がが相対的動きに抗して安定するようにする。

使用時に、試験サンプルを含むスワブを装置(640)のベースパネル(642)の第2対置成分(648)の第1收容部(678)に入れる。少なくとも1つの抽出試薬をウェル(680)に入れ、被検体をスワブから抽出する。ベースパネルの第1及び第2対置成分(646)、(648)をその後対置させる。第1收容部(678)中のスワブはコンダクター(670)と接触し、抽出した被検体をコンダクター(670)に与える。抽出済みサンプルはその後結合ゾーン(668)を通して流れ、そこにある標識特異的結合パートナーを再溶解する。抽出済みサンプル及び再溶解した標識特異的結合パートナーはそれからクロマトグラフィーメジウム(656)に入り、クロマトグラフィーメジウム(656)の少なくとも検出ゾーン(666)を含めた部分を流れる。その後水性液体をインサート(644)のアプリケータ(688)に加え、可溶性銀塩及び還元剤を再溶解する。インサート(644)の突出部(696)をベースパネル(642)の第2收容部(686)に挿入する。アプリケータ(688)が障壁の開口(674)と接触し、アプリケータ(686)の内容をその開口を介してクロマトグラフィーメジウム(656)に供給するようにインサートが置かれる。第2及び第3吸収体(692)、(694)はクロマトグラフィーメジウム(656)の2つの部分と接触する。再溶解した銀塩及び還元剤はその後クロマトグラフィーメジウム(656)の少なくとも検出ゾーン(666)を含めた部分を流れ、被検体検出のための信号を増幅する。

#### I V. 酵素免疫クロマトグラフィー

特異的結合反応によって被検体を測定する強力な方法は酵素免疫クロマトグラフィーである。この方法では特異的結合反応における成分類の1つ、例えば抗体、抗原またはハプテンなどを酵素で標識化する。その成分とその特異的結合パートナーとのコンプレックスの検出は、その酵素に基質を供給し、その酵素が触媒する反応によって生ずる検出可能の生成物を観察するという方法で行う。こ

れは原理的に強力な方法であるとはいえ、従来の免疫クロマトグラフィーは酵素標識には適さない；というのは酵素の移動後に酵素基質を加えなければならないからである。試験片に残っている酵素はその後バックグラウンドの色を発生し、そのため結果の読みは、不可能とは言わないまでも、非常にむずかしくなる。しかし本発明による装置を用いて下記のように酵素免疫クロマトグラフィーを実施することができる。

#### A. 酵素標識化の原理

酵素標識化の原理は当業者にはよく理解されており、例えばチジュッセン (p. Tijssen) 著 “酵素免疫測定法の実際と理論” (Elsevier, Amsterdam, 1985)、173-296ページ (この引例によってここに挿入される)、またはハーロウ (E. Harlow) & レーン (V. R Lane) 著、“抗体：実験室マニュアル” (Cold Spring Harbor, New York, 1988)、592-599ページ (この引例によってここに挿入される) に開示されている。酵素及び基質の選択、及び特異的結合パートナーを酵素にカップリングするための方法の選択などは当業者が十分よく理解しているパラメーターである。

##### 1. 酵素類及び基質類の選択

特性がよく知られている多数の酵素が酵素免疫クロマトグラフィーに用いられる。これらの酵素の各々に対して少なくとも1つの基質を用いることができる。基質は、酵素によって触媒される反応の結果として不溶性生成物を与えるような基質であることが好適である。このような不溶性生成物は検出ゾーンでクロマトグラフィーメジウムに付着し、検出を可能にする。

酵素免疫クロマトグラフィーのために特に有用な酵素類のなかには、ホースラディッシュ パーオキシダーゼ及びアルカリホスファターゼがある。ホースラディッシュパーオキシダーゼでは不溶性生成物を形成する適した基質としては4-クロロ-1-ナフトール、3-アミノ-9-エチルカルバゾール、及びジアミノベンチジン (3, 3'、4, 4'-テトラアミノビフェニル) がある。ジアミノベンチジンはコバルトまたはニッケルイオンの存在のもとでを使用することができる。アルカリホスファターゼでは不溶性生成物を生産するのに適した基質はブロモクロロインドリルリン酸-ニトロブルーテトラゾリウムの混合物である。免

疫クロマトグラフィーに使用するために適したその他の酵素類及び基質類は当業者には公知である。

## 2. 酵素と特異的結合対のメンバーとのカップリング

免疫クロマトグラフィーを実施する場合、被検体を含む特異的結合対の最低1つのメンバーは検出可能生成物を生産するために用いた酵素に共有結合する。もしも被検体が抗原またはハプテンである場合、その抗原またはハプテンに特異的に結合する抗体がその酵素に共有結合するのが普通である。しかし、抗体が結合している抗原またはハプテンが酵素に特異的に結合する場合にも免疫クロマトグラフィーを用いてその抗体を検出することができる。抗体を酵素にカップリングするために有用な試薬のなかには、過ヨウ素酸ナトリウム、グルタルアルデヒド、p-ベンゾキノン、N, N'-o-フェニレンジマレイミド、ビス-琥珀酸N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、カルボジイミデス(carbodiodiimides)、トルエン2, 4-ジイソシアネート、4, 4'-ジフルオロ-3, 3'-ジニトロフェニルスルホン、4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサノ-1-カルボン酸N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、p-ホルミル安息香酸のN-ヒドロキシスクシンイミドエステル、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジリジチオ)プロピオネートである。結合のために適したその他の試薬が当業者には公知である。

抗原及びハプテンの、酵素を含めた蛋白質への結合は当業者には公知であり、例えばチジュッセン(同上)の279-296ページに記載されている。

つまりカルボキシル基を含み、またはカルボキシル化を受け得るハプテンまたは抗原は、混成無水物反応によって、水溶性カルボジイミドとの反応によって、またはN-ヒドロキシスクシンイミドとの反応によってカップリング可能である。カルボキシル化は、酸素又は窒素置換基をハロエステルでアルキル化し、その後エステルを加水分解するか、またはステロイドのヒドロキシルまたはケトン基にヘミスクシネートエステルまたはカルボキシメチロキシムを形成することによって行われる。

アミノ基、またはアミノ基に還元可能なニトロ基をもつハプテンまたは抗原は



ジアゾニウム塩に変換され、芳香族アミンではアルカリ性 pH で蛋白質と反応する。脂肪族アミンを有するハプテンまたは抗原は、カルボジイミドとの反応、ホモ二官能価試薬トリレン-2、4-ジイソシアネートとの反応、またはマレイミド化合物との反応など種々の方法によって蛋白質に結合し得る。脂肪族アミンは p-ニトロベンゾイルクロリドとの反応及びその後の p-アミノベンゾイルアミドへの還元という方法で芳香族アミンに変換することもできる。p-アミノベンゾイルアミドはジアゾ化後、蛋白質に結合し得る。例えばジメチルピメリミデート、ジメチルアジピミデート、またはジメチルスベリミデートなどの二官能価エステルもアミノ基含有ハプテンまたは抗原を、酵素を含めた蛋白質にカップリングするために用いられる。

チオール含有ハプテンまたは抗原は、マレイミド類、例えば 4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサノ-1-カルボン酸 N-ヒドロキシスクシンイミドエステルなどで蛋白質に結合できる。

ヒドロキシル基をもったハプテンまたは抗原ではアルコール官能基はヘミスクシネートに変換でき、それは結合のために使用できるカルボキシル基を提供する。或いは二官能価試薬セバコイルジクロリドはアルコールを酸塩化物に変換し、後者はその後酵素と反応する。

フェノール類はカルボキシル基を提供するジアゾ化アミノ安息香酸で活性化し、その後混成無水物反応によって蛋白質と反応する。糖類は p-ニトロフェニルグリコシドを形成することによって活性化され、その後ニトロ基は還元されてアミノ基になり、ジアゾ化によって結合する。その他には糖のビシナルグリコールを過ヨウ素酸塩によって分解してアルデヒドにし、その後水素化ホウ素ナトリウムによる還元的アルキル化によってアミンにカップリングするという方法もある。或いはヒドロキシル含有ハプテンまたは抗原を、クロロカルボネートに変換後、ホスゲンとの反応によって結合させることができる。

アルデヒドまたはケトン基を有するハプテンまたは抗原では、o-カルボキシメチロキシムの形成を介してカルボキシル基を導入することができる。ケトン基も p-ヒドラジノ安息香酸で誘導化され、カルボキシル基を生成することができる。アルデヒドを含むハプテンまたは抗原は、水素化ホウ素ナトリウムのような

還元剤との反応によって安定化されるシッフ塩基の形成によって、直接結合できる。上記のことは概要に過ぎない。その他のカップリング法は当業者には公知であり、特異的抗原またはハプテンのために有用であるかも知れない。

#### B. 酵素免疫クロマトグラフィーに適した装置

本発明による免疫クロマトグラフィー装置のいくつかの変形型は酵素免疫クロマトグラフィーに適する。このような1装置において、被検体に対する酵素標識特異的結合パートナーを試験サンプルに加え、クロマトグラフィーメジウムを移動させる。装置においてインサートは酵素標識のための基質を再溶解可能の形で含む。

この装置は次のものからなる：

##### (1) 下記のものを含むベースパネル：

(a) (i) 第1端部及び第2端部及び第1及び第2面を有し、上記のように検出ゾーンに対被検体—特異的結合パートナーを固定して有する平らなクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触するコンダクタと；

(iii) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣接し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であって、その開口は障壁の面積より実質的に小さい上記障壁；とからなる第1対置成分と；

(b) 第1吸収体を含む第2対置成分であって、第1及び第2対置成分が対置するとき、第1吸収体がクロマトグラフィーメジウムの、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間の部分と作動接触するように第1及び第2対置成分が形成される第2対置成分と；

(c) インサート及び第1及び第2対置成分の表面の相対的動きに抗してインサートを安定に保つためにインサートの突出部を挿入するための収容部；

##### (2) 下記のものを含むインサート：

(a) 対被検体—特異的結合パートナーに結合する酵素標識のための基質を再溶解可能の形で含むアプリケーションタであって、上記酵素標識は基質を含む反応を触媒することによって不溶性検出可能生成物を生産するアプリケーションタと；

- (b) 第2吸収体と；
- (c) 第3吸収体と；
- (d) ベースパネルの収容部に挿入するための突出部。

インサートは、突出部がベースパネルの収容部に挿入されるとき、アプリケーションは開口と作動接触して開口（アプリケーションではないか？）の内容物を開口を介してクロマトグラフィーメジウムに供給し、第2吸収体はクロマトグラフィーメジウムの、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間の部分と作動接触し、第3吸収体はクロマトグラフィーメジウムの、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間の部分と作動接触するように形成される。

この装置は図16A及び16Bに示される。図16Aはベースパネルの2成分の配列をインサートと共に示し、図16Bはベースパネルの線N-N'に沿った断面を示し、クロマトグラフィーメジウム、クロマトグラフィーメジウムに直接または間接に接触する諸要素、障壁及び開口の詳細を示す。検定装置（720）はベースパネル（722）及びインサート（724）からなる。ベースパネル（722）はヒンジ（730）によって結合した第1対置成分（726）及び第2対置成分（728）からなる。第1対置成分（726）は第1及び第2端部（738）、（740）及び第1及び第2面（742）、（742）を有するクロマトグラフィーメジウム（736）を含む。クロマトグラフィーメジウム（736）は対被検体-特異的結合パートナーが固定される検出ゾーン（746）を含む。第1対置成分（726）はクロマトグラフィーメジウム（736）と作動接触するコンダクタ（748）をも含む。第1対置成分（726）はクロマトグラフィーメジウム（736）の第1面（742）に隣接する実質上液体不透過性障壁（750）をも含む。障壁（750）は液体をクロマトグラフィーメジウム（736）に供給するための開口（752）を有する。開口（752）は障壁（750）の面積より実質的に小さい。第1対置成分（726）はクロマトグラフィーメジウムを見るための窓（754）をも含む。

第2対置成分（728）は第1吸収体（756）を含む。第1及び第2対置成分（706）、（708）は、それらに対置させるとき、第1吸収体（756）がクロマトグラフィーメジウム（736）の、障壁（750）とクロマトグラ

フィーメジウム（736）の第2端部との間の第1の部分（758）と作動接触するように構成される。ベースパネル（702）はさらにインサート（724）を保持するための収容部（760）を含む。第1及び第2対置成分（726）、（728）は、係合部材（762）、例えば再シール可能のレッテル、ベルクロ<sup>TM</sup>ファスナーまたはその他のリバーシブルに係合される閉鎖物などによって結合できる。

インサート（724）は、対被検体-特異的結合パートナーに結合する酵素標識のための基質を再溶解可能な形で含むアプリケータ（764）を含める。インサート（724）は第2吸収体（766）及び第3吸収体（768）並びにベースパネル（722）の収容部（760）に挿入するための突出部（770）も含む。インサート（724）は、突出部（770）をベースパネル（722）の収容部（760）に挿入すると、アプリケータ（764）が開口（752）と作動接触してアプリケータ（764）の内容物を開口を介してクロマトグラフィーメジウム（736）に供給するように構成される。第2吸収体（766）はクロマトグラフィーメジウム（736）の、障壁（750）とクロマトグラフィーメジウム（736）の第1端部（738）との間の第2部分（772）と作動接触する。第3吸収体（768）はクロマトグラフィーメジウム（736）の、障壁（750）とクロマトグラフィーメジウム（736）の第2端部（740）との間の第1の部分（758）と作動接触する。

使用時には、対被検体-酵素標識特異的結合パートナーを水性試験サンプルに加える。サンプルと酵素標識を含む溶液をコンダクタ（748）に加える。その後ベースパネル（722）の第1及び第2対置成分（726）、（728）を対置させる。第1吸収体（756）はクロマトグラフィーメジウム（736）の、障壁（750）とクロマトグラフィーメジウム（736）の第2端部との間の部分（758）と作動接触する。サンプル-標識溶液はその後クロマトグラフィーメジウム（736）に入り、クロマトグラフィーメジウム（736）の少なくとも検出ゾーン（746）を含む部分を通して流れる。水性液体をインサート（724）のアプリケータ（764）に加え、アプリケータ（764）上の基質を再溶解する。これを行うのは、コンダクタ（748）にサンプル-標識溶液を供給

する前でも後でもよい。それからインサート(724)の突出部(770)をベースパネル(722)の収容部(760)に入れる。インサート(724)は、アプリケータ(764)が障壁(750)の開口(752)と接触するように置かれる。アプリケータ(764)の内容物は開口(752)を通してクロマトグラフィーメジウム(736)に供給される。第2及び第3吸収体(766)、(768)はクロマトグラフィーメジウム(736)の部分(772)及び(758)と接触し、クロマトグラフィーメジウム(736)から液体を引き出す。再溶解した基質はその後クロマトグラフィーメジウム(736)の少なくとも検出ゾーン(746)を含む部分を通して流れる。酵素標識の酵素はその酵素を含める反応を触媒し、標識の信号として不溶性生成物を沈着させる。この結果検出ゾーン(746)に結合した標識化特異的結合パートナーの検出は可能となり、被検体を検出及び／または測定することができる。

酵素免疫クロマトグラフィーに適した本発明による検定装置のもう一つの変形型は、装置に供給するサンプル酵素溶液の予備的混合を必要としない。この装置では、ベースパネルの第1対置成分は酵素で標識化した対被検体-特異的結合パートナーを含む。

この装置は次のものからなる：

(1) 下記のものを含むベースパネル：

(a) (i) 第1端部及び第2端部、及び第1及び第2面を有し、上記のように検出ゾーンに対被検体-特異的結合パートナーを固定して含む平らなクロマトグラフィーメジウムと；

(ii) 酵素で標識化した対被検体-特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含む結合ゾーンであって、クロマトグラフィーメジウムの第1端部と作動接触する結合ゾーンと；

(iii) 結合ゾーンと作動接触するコンダクタであって、その結合ゾーンがクロマトグラフィーメジウムの第1端部とコンダクタとを架橋するように配置されたコンダクタと；

(iv) クロマトグラフィーメジウムの第1面に隣室し、液体をクロマトグラフィーメジウムに供給するための開口を有する実質上液体不透過性障壁であつ

て、その開口は上記のように障壁の面積より小さい障壁；とを含む第1対置成分と；

- (b) (i) 試験サンプルを含むスワブを入れる第1の収容部と；
- (ii) 最低1つの抽出試薬をスワブに加えるためのウェルと；
- (iii) 第1収容部及びウェルから離れている第1吸収体；とを含む第2対置成分と；

(c) インサートをインサートの及び第1及び第2対置成分の面の相対的動きに抗して安定に保持するための第2の収容部；

(2) 下記のものを含むインサート：

(a) 対被検体—特異的結合パートナーに結合した酵素標識のための基質を再溶解可能の形で含むアプリケータであって、上記酵素標識は上記基質を含む反応を触媒することによって不溶性検出可能生成物を生産するというアプリケータと；

(b) 第2吸収体と；

(c) 第3吸収体と；

(d) ベースパネルの第2収容部のスロットに挿入するための突出部。

第1及び第2対置成分は、それらを対置させるとき、第1吸収体がクロマトグラフィーメジウムの、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間の部分と接触し、第1収容部がコンダクタと接触するように構成される。

インサートは、突出部をベースパネルの第2収容部に挿入すると、アプリケータが開口に接触し、アプリケータの内容物が開口からクロマトグラフィーメジウムに供給されるように構成される。第2吸収体はクロマトグラフィーメジウムの、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第1端部との間の部分と作動接触する。第3吸収体はクロマトグラフィーメジウムの、障壁とクロマトグラフィーメジウムの第2端部との間の部分と作動接触する。

本装置は図17A及び17Bに記載される。図17Aはベースパネルの2成分をインサートとともに示す。図17Bはベースパネルの第1成分の線O-O'に沿って切った断面を示し、クロマトグラフィーメジウム、クロマトグラフィーメジウムに直接または間接的に接触する要素類、障壁及び開口の詳細を示す。検定

装置(780)はベースパネル(782)とインサート(784)を有する。ベースパネルパートナー(782)はヒンジ(790)で結合した第1対置成分(786)及び第2対置成分(788)を含む。第1及び第2対置成分(786)及び(788)は係合部材(792)、例えば再シール可能なレットル、ベルクロ<sup>TM</sup>ファスナー、またはその他のリバーシブル係合閉鎖物によって結合することができる。

第1対置成分(786)はクロマトグラフィーメジウム(794)を有する。クロマトグラフィーメジウム(794)は第1及び第2端部(796)、(798)、第1面(800)、及び第2面(802)を有する。クロマトグラフィーメジウム(794)は、対被検体-特異的結合パートナーを固定して含む検出ゾーン(804)をも有する。第1対置成分は酵素で標識した対被検体-特異的結合パートナーを再溶解可能な形で含む結合ゾーン(806)をも含む。結合ゾーン(806)はクロマトグラフィーメジウム(794)の第1端部(796)と作動接触する。第1対置成分(786)はさらに共役ゾーン(806)と作動接触するコンダクタ(808)を含む。結合ゾーン(806)はクロマトグラフィーメジウム(794)の第1端部(796)とコンダクタ(808)とを架橋する。第1対置成分(786)はさらに、クロマトグラフィーメジウム(794)の第1面(800)に隣接する実質上液体不透過性障壁(810)を含める。障壁(810)はクロマトグラフィーメジウム(794)に液体を供給するための開口(812)を有する。開口(812)は障壁(810)より面積が実質的に小さい。第1対置成分(786)はさらにクロマトグラフィーメジウム(794)を見るための窓(814)を含む。

第2対置成分(788)は試験サンプルを含むスワブのための第1収容部(816)、最低1つの抽出試薬をスワブに添加するためのウェル(818)、及び第1収容部(816)及びウェル(818)から離れている第1吸収体(820)を含む。

ベースパネル(782)はインサート(784)を第1及び第2対置成分(786)、(788)及びインサート(784)の相対的動きに抗して安定に保つための第2収容部(822)を含む。

第1及び第2対置成分(786)、(788)は、それらに対置させるとき、第1吸収体(820)がクロマトグラフィーメジウム(794)の、障壁(810)とクロマトグラフィーメジウムの第2端部(798)との間の部分(824)と接触するように構成させる。スワブを保持するための第1収容部(816)はコンダクタ(808)と接触する。

インサート(784)には、対被検体-特異的結合パートナーに結合する酵素標識のための基質を再溶解可能な形で含むアプリケータ(826)がある。その酵素標識は、その基質を含めた反応を触媒することによって不溶性の検出可能生成物を生産する。

インサート(784)は第2吸収体(828)、第3吸収体(830)、及びベースパネル(782)の第2収容部(822)に入る突出部(832)をも含む。インサート(784)は、突出部(832)がベースパネル(782)の第2収容部(822)に入るとき、アプリケータ(826)が障壁(810)にある開口(812)と作動接触するように作られている。アプリケータ(826)の内容物は開口(812)からクロマトグラフィーメジウム(794)に供給される。第2吸収体(828)はクロマトグラフィーメジウム(794)の、障壁(792)とクロマトグラフィーメジウム(794)の第1端部(796)との間の部分(834)と作動接触する。第3吸収体(830)はクロマトグラフィーメジウム(794)の障壁(812)とクロマトグラフィーメジウム(794)の第2端部(798)との間の部分(824)と作動接触する。

使用時に、試験サンプルを含むスワブをベースパネル(782)の対2対置成分(788)の第1収容部(816)に入れる。スワブから被検体を抽出するために最低1つの抽出試薬がウェル(818)に供給される。第1及び第2対置成分(786)、(788)を対置させると、第1収容部(816)にあるスワブはコンダクタ(808)と接触し、抽出された被検体がコンダクタ(808)に与えられる。第1吸収体(820)はクロマトグラフィーメジウムの、障壁(810)とクロマトグラフィーメジウム(794)の第2端部(798)との間の部分(824)と接触する。抽出済みサンプルはその後結合ゾーン(806)を通じて流れ、結合ゾーン(806)の標識特異的結合パートナーを再溶解し亦栢



出ずみサンプルと再溶解した標識特異的結合パートナーはクロマトグラフィーメジウム (794) に入り麻Nロマトグラフィーメジウム (794) の少なくとも検出ゾーン (804) を含む部分を通して流れる。

水性液体をインサートのアプリータ (826) に加え基質を再溶解する。この水性液体の添加は第1及び第2対置成分 (786)、(788) を対置させる前でも後でもよい。

その後、インサート (784) の突出部 (832) をベースパネル (782) の第2収容部 (822) に挿入する。インサート (784) は、アプリータ (826) が障壁 (810) に存在する開口 (812) と接触し、アプリータ (826) の内容物が開口 (810) からクロマトグラフィーメジウム (794) に供給されるような位置にある。第2及び第3吸収体 (828)、(830) はクロマトグラフィーメジウム (794) の部分 (834) 及び (824) と接触し、クロマトグラフィーメジウム (794) から液体を引き出す。再溶解した基質はその後クロマトグラフィーメジウムの少なくとも検出ゾーン (804) を含む部分を通して流れ、被検体の検出に用いる検出可能信号が形成される。

本発明は次の例によって説明される。これらの例は説明のみを目的とし、決して発明の範囲を制限するものではない。

### 例

#### 実施例1

ギアルディア陰性サンプルでは反応がおきないことを示す例

糞便寄生虫ギアルディア陰性サンプルは本発明による検定装置において組み立てられた抗ギアルディア抗体ラインを含む試験片とは反応しないことを示す実験を行った；すなわち陰性対照。この装置において、クロマトグラフィーメジウムとしては5- $\mu$ mニトロセルロースを用い（試験片）、2ラインの抗ギアルディア抗体（Cellabs社、オーストラリアから入手）を指示通り試験片上に置いた虫試験片の長さは0.75インチ（1.9cm）であった。試験片の幅は0.25インチ（0.64cm）であった。試験片の各端部に長さ0.375インチ（0.95cm）の吸収体（アールストロム270、Ahlstrom Filtration社、Holly Springs、

PA) を置いた。2抗体ラインの中間地点に約1/16インチ(0.16cm)の隙間またはスリットを残して、試験片の露出面を不透過性ラベルで覆った。この覆いは第1障壁(252)であり、隙間は第1障壁(252)の開口(254)である。

試験片及び不透過性ラベルを、ガスケット(82)及び吸収体(98)、(100)をもたない、上記図3A及び3Bに示す簡易型2成分検定装置に置いた。クロマトグラフィーメジウム(試験片)(84)及び不透過性ラベル(障壁)(102)の頂上に桃赤色のコロイド金色素(40nm、EY Laboratories、San Mateo CA)で標識化した抗ギアルディア抗体の結合パッド(アプリーケータ)(106)を置いた。装置の右手パネルに試料パッド(サンプル調製ゾーン)(110)を置いた。試料パッドはポリエステル材で作られていた。

ギアルディア陰性の糞便試料を試料パッドに付与し、ハウジングを閉じた。かすかに桃色の液体が中心供給帯から直ちに両方向にひろがるのが窓から見えた。30分間の観察時間内にラインは発現しなかった。したがって陰性試料は陰性結果を与えることがわかった。

## 例2

### ギアルディアの陽性検出を示す実験

簡易型検定装置を作成した。この装置は基本的には図7A及び7Bに示す装置に似ているが、下記のように変化している：(1)分配膜(285)が省略された；(2)第2成分において、スワブ(286)の収容部(288)の代わりにサンプル調製ゾーン(試料パッド)が置かれた；(3)係合部材(係止部材)(268)、(269)、ガスケット(270)、及びスワブの細い端を収めるための開口(271)が省略された；(4)(278)をコントロールゾーンとせずに、すなわち被検体または被検体同族体のラインとせずに、(277)及び(278)共に抗ギアルディア抗体のラインとした。この装置において、第1障壁(281)の開口(282)は約1/16インチ幅であった。

この装置は図18に断面図が示される。装置(840)は第1及び第2対置成分(841)及び(842)を有する。第1対置成分(841)はクロマトグラフィーメジウム(843)を有し、それは第1端部(844)及び第2端部(8

45) 及び第1及び第2面(846)及び(847)を有する。クロマトグラフィーメジウム(843)の上には第1及び第2検出ゾーン(848)、(849)がある。第1対置成分(841)はクロマトグラフィーメジウム(843)を見るための窓(850)を有する。クロマトグラフィーメジウム(843)の第1面(846)に隣接して、開口(852)をもった第1障壁(851)がある。第1対置成分はさらに、第1障壁に隣接するアプリケータ(853)及びアプリケータ(853)の中心部分に隣接する第2障壁(854)を含む。第2対置成分(842)は試料パッド(855)を有する。

ギアルディア陽性糞便試料を装置(840)の第2対置成分(842)上の試料パッド(855)に付与し、装置(840)を閉じて試料をクロマトグラフィーメジウム(843)に供給する。1分以内に窓から2本の生成ラインが明らかに見えた。試験終了時に装置(840)を開けると、アプリケータ(853)(結合パッド)からは桃色の結合物が完全になくなっているのが認められた。

### 例3

#### ストレプトコッカスA(streptococcusA)の検定装置

ストレプトコッカスAの検定装置を本発明にしたがって作成した。この検定装置は図8A及び8Bに示す検定装置の簡易型で、ガスケット(297)及び開口(298)が省略されている。検定装置(290)の第1対置成分(291)には、検出ゾーン及びコントロールゾーン(305)のような捕捉抗体を有するニトロセルロースのクロマトグラフィーメジウム(299)がある。捕捉抗体は抗ストレプトコッカスA抗体(Binax、Portland、ME)であった。クロマトグラフィーメジウム(299)は透明なプラスチック裏地(315)で裏打ちされ、そこからクロマトグラフィーメジウムを見ることができた。クロマトグラフィーメジウム(299)の1端部には吸収体(306)が置かれた。クロマトグラフィーメジウム(299)は第1障壁膜(307)で覆われ、その膜には第1開口(308)となる約1/16インチ幅のスリットがあった。第1障壁膜に隣接して、分配膜として作用する伝導性膜(309)が置かれ、伝導性膜(309)に隣接して第2障壁膜(310)が置かれた。第2障壁膜は、流れが第2障壁膜

(310) 端部周囲を進み、伝導性膜(309)に達するように配置された。アプリケーション(311)としてはたらく結合パッドが第2障壁膜(310)に隣接して置かれた。アプリケーション(311)は端部が伝導性膜(309)と接触した。結合パッド(311)は、表面障壁(312)となる不透過性ラベルが覆っていた。その不透過性ラベル(312)には、サンプルが通過する第2開口(313)となる孔と、クロマトグラフィーメジウム(297)の対置端部に位置する2つのベント(314)がある。

検定装置(290)の第2成分(292)は、第2成分(292)を覆う不透過性ラベルによって形成された、スワブを入れるための収容部(316)があった。第2成分(292)には、抽出試薬をスワブに加えるための真空成形ウェル(317)も含まれた。収容部(316)及びウェル(317)は第2成分(292)の面より下にあり、不透過性ラベルが第2成分(292)の表面にある。使用時に、ストレプトコッカス・ピオゲネスA (Streptococcus Pyogenes A) 菌(ATCC12385)をダクロンスワブに加えた。そのスワブを検定装置(290)の第2対置成分(292)上の収容部(316)に入れた。完全に挿入したとき、スワブの頭部が第2成分(292)の面からわずかに出ていた。抽出溶液(抽出試薬A(2M亜硝酸ナトリウム、5%ツイーン20)4滴、その後抽出試薬B(0.25M酢酸、5%ツイーン20)4滴)をウェル(317)に加え、細菌及び細菌抽出液が灯心作用によってスワブ頭部に運ばれるようにした。1分間の抽出後、第1成分(291)を第2成分(292)に重ねることによって装置を閉鎖し、スワブ頭部を表面障壁(312)及び第2開口(313)と接触させた。抽出液は結合パッド(311)の端部に移動し、第2障壁膜(310)の周囲を通り、分配膜(309)に流れた。分配膜(309)は結合物と抽出液とを混合するのに役立ち、その後その混合物は第1開口(308)及び第1障壁膜(307)を介してニトロセルロースクロマトグラフィーメジウム(299)に供給された。第1開口(308)のコントロールライン側に吸収体がないため、混合物の大部分が抗ストレプトコッカスA抗体の捕捉ラインを確実に通過した。その捕捉ラインを超えたところに吸収体(306)があった。この装置は総試験時間3分以内に $1 \times 10^4$ の微生物を確実に検出した。陰性試料は最低20分

間は

一貫して陰性の結果を与えた。

#### 例4

##### 酵素免疫クロマトグラフィーの装置

上の図16A及び16Bによって作成された装置を用いて、妊娠テストとしてよく測定されるホルモン、ヒト絨毛性ゴナドトロピンの酵素免疫クロマトグラフィーを行った。この装置ではアプリケータ(764)は酵素標識のための再溶解可能な基質は含んでいなかった；むしろ基質は試験中に加えた。

ニトロセルロース クロマトグラフィーメジウム(736)上で、抗hCG抗体ラインを検出ゾーン(746)として固定した。モノクローナル抗hCG抗体-アルカリホスファターゼ結合体(Hybritech San Diego, CA)を尿(hCG陽性または陰性)と混ぜ合わせ、クロマトグラフィーメジウム(736)の第1端部(738)に加えた。陽性反応で沈降物を与える酵素基質(沈降アルカリホスファターゼ基質、Hybritech, San Diego, CA)をインサート(724)上のアプリケータ(764)に加えた。5分後、インサート(724)を装置(720)上に配置し、装置(720)を閉鎖した。試験尿がhCGを含む場合は沈降基質の青い帯が検出ゾーン(746)に発現した。

##### 本発明の利点

本発明によるクロマトグラフィー検定装置は対置要素から構成されるという利点を有する。対置成分の利用は多数の異なる順序の反応を可能にし、そのためその用途は著しく広くなる。これが可能なのは、このような対置成分の使用によって試薬類を試験片またはその他の反応成分の正確に決められた領域に供給することができるからである。対置成分の使用は、試薬が装置のデッド部分に滞留して廃棄されるようなことは決してなく、最小量の試薬消費で最適性能をもたらす。最後に、対置成分を使用すれば、多分汚染されている血液サンプル、例えばHIVまたは肝炎ウィルスを含む血液など、を最も適切に閉じ込めることができる。

その上、本発明によるクロマトグラフィー検定装置は臨床的に重要な被検体、例えばストレプトコッカスA及びB抗原、糞便潜血試験のためのヘモグロビン、

及びピロリ菌 (*Helicobacter pylori*) に対する抗体など、並びに臨床的に重要なハブ

テン類の迅速かつ正確な検出を可能とする。装置の作成幕yびその結果としてのサンプル及び／または試薬類の障壁の開口からのクロマトグラフィーメジウムへの供給は、サンプル及び試薬類のクロマトグラフィーメジウムへの供給以上のものを可能にし、この方法以外では微粒子または着色サンプルによって起きるかも知れない妨害を減らす。この構造はサンプルがクロマトグラフィーメジウムに達する前に微粒子を除去するためのフィルターを使用できる。再溶解可能の形のコロイド金属標識の使用は極めて迅速な標識化法を提供する。これはさらに汚染物質の分離に役立ち、検定性能を改良する。

本発明による検定装置は連続的免疫クロマトグラフィーまた酵素免疫クロマトグラフィーに用いることもできる。これらの用途においては、比較的低いバックグラウンド及び比較的高い感度という利点を示す。同様に、本発明による検定装置は、金標識を増強するために銀増幅を用いる増幅イムノアッセイの実施に適する。

その上本発明による検定装置は、検定装置のクロマトグラフィーメジウムに被検体を直接吸収するために、例えばリポ多糖類などの疎水性被検体の検定にも適する。

生物学的サンプル、例えば血液、痰または糞便などの抽出をこの装置で直接行うことができ、廃棄しなければならない汚染された材料の量を減らし、そのような汚染された材料による医者、技術者または一般の人々の偶発的感染の可能性を減らす。本発明による装置を用いる試験法は広い動的範囲を有し、他の試験法では高濃度の被検体濃度でおきるかも知れないfalse negatives (偽りの陰性) から実質上免れる。

本発明をいくつかの好適変形を参照してかなり詳細に説明したとはいえ、他の変形及び態様も可能である。これらの変形型としては、ここに記載した基本的原理によって作動し、障壁の1開口から最低1つの試薬をコントロール下で供給する2-または3成分からなるその他の諸配置がある。これらの変形型は、種々の

配置で競合的イムノアッセイ並びにサンドイッチイムノアッセイに採用される検定装置を含める。そこで本発明の範囲は次に述べるクレイムによって決定される。

【図1】

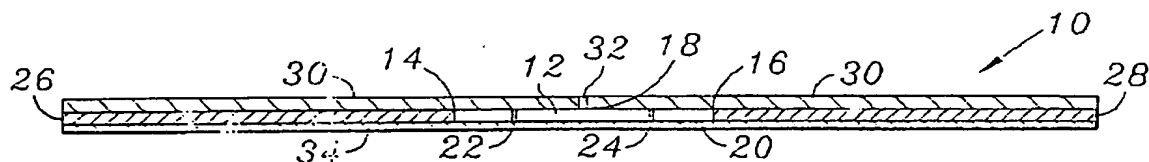


FIG. 1

【図2】

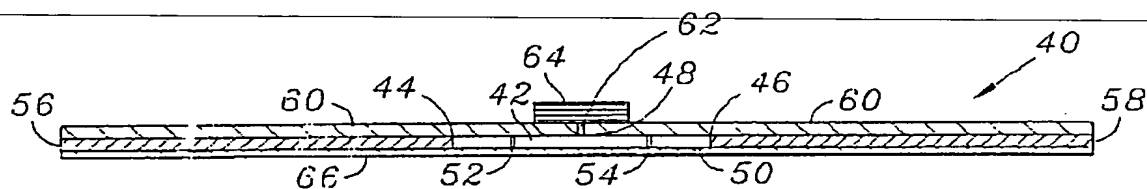


FIG. 2

*FIC. 3A*

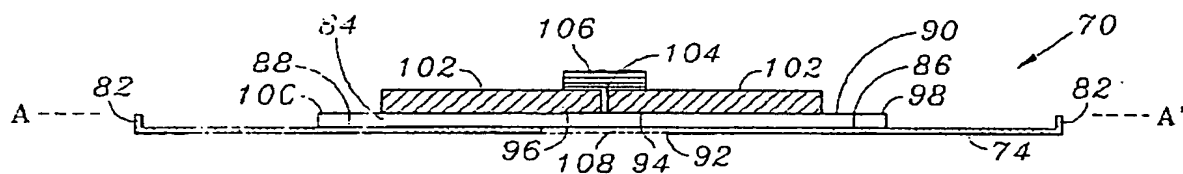
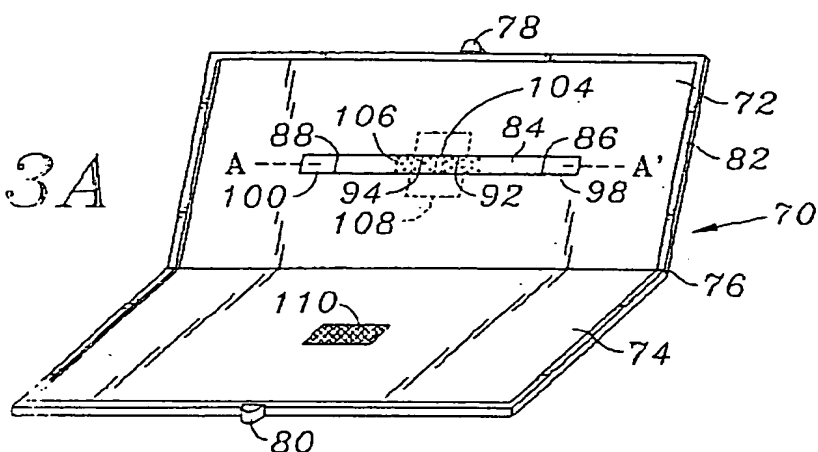


FIG. 3B

FIG. 4A

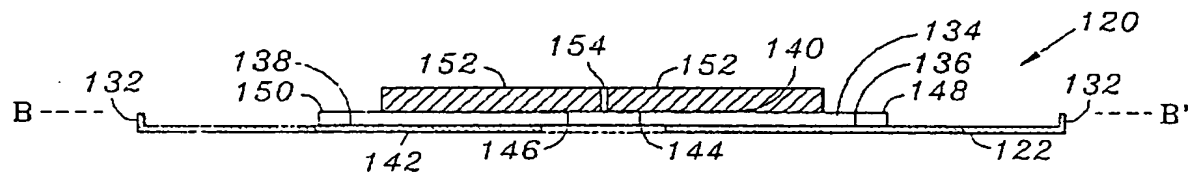
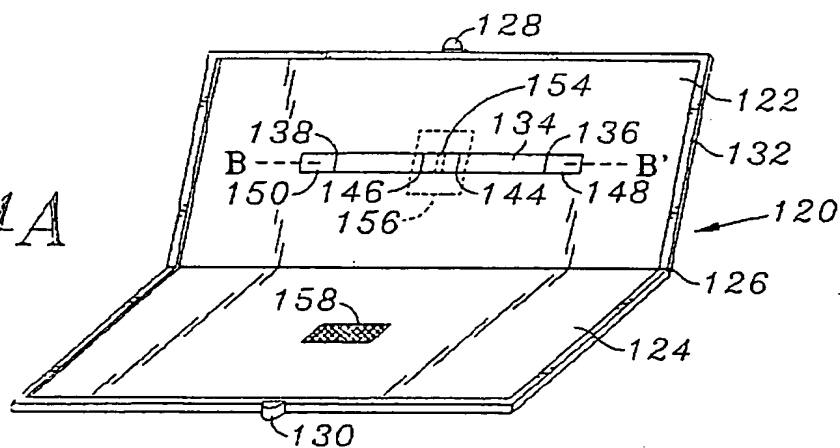
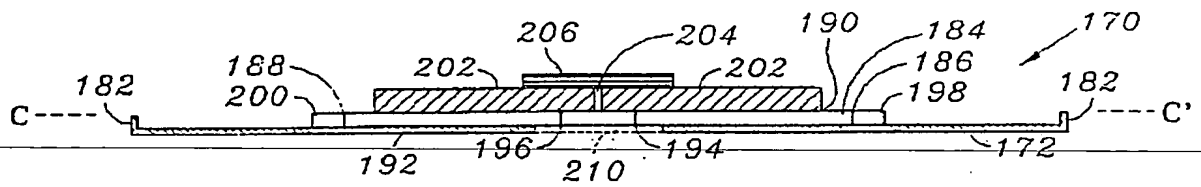
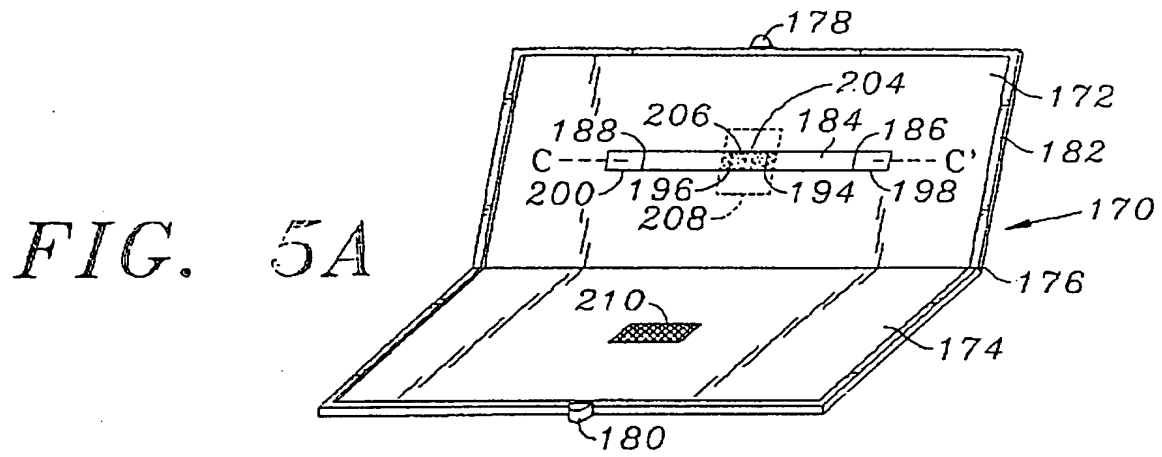


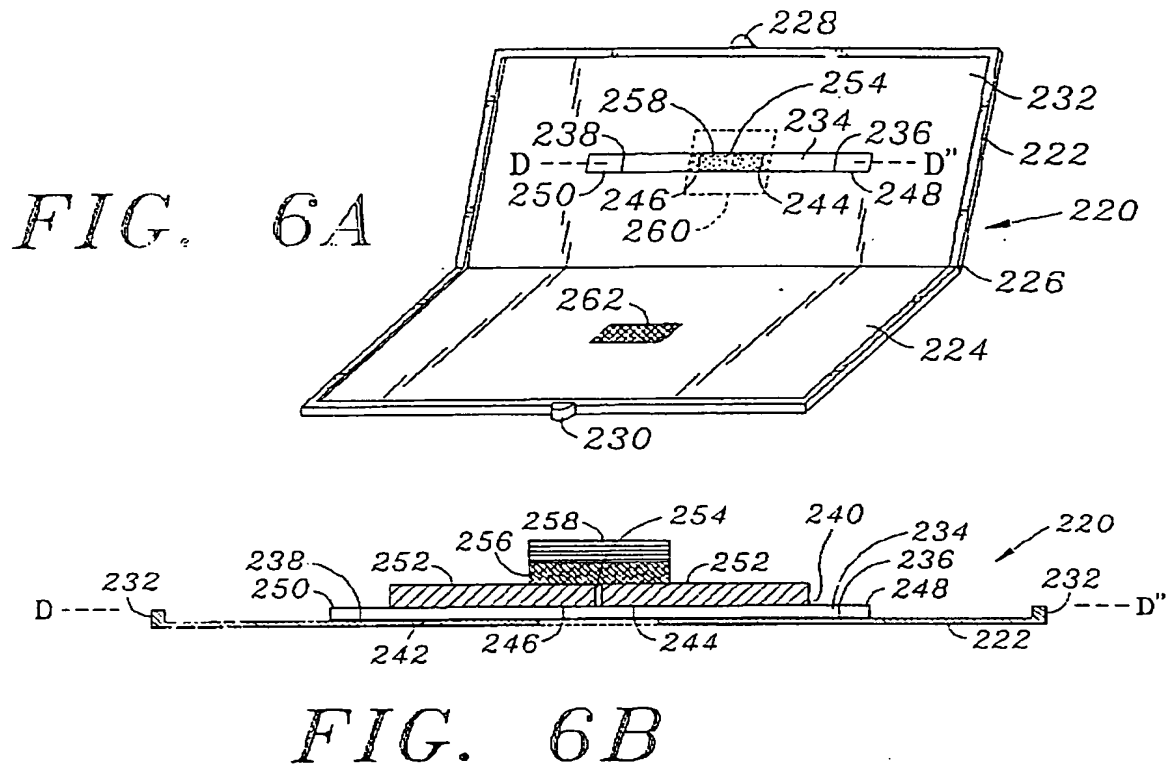
FIG. 4B



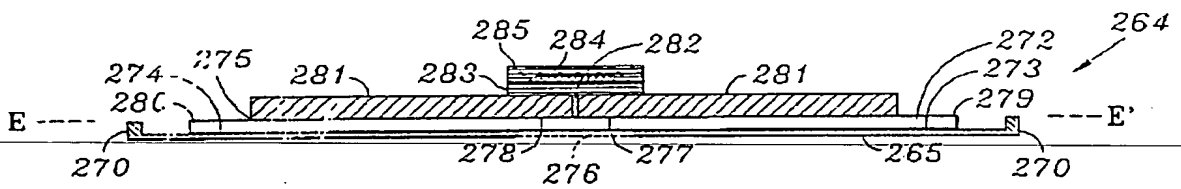
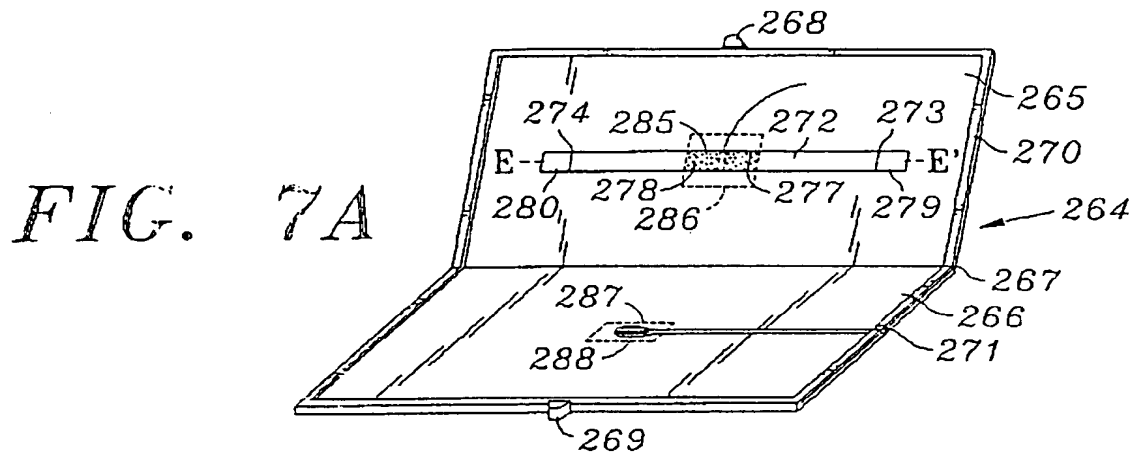
【図5】



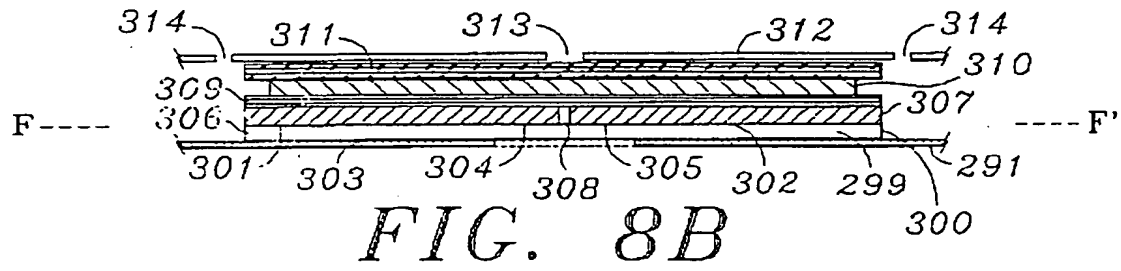
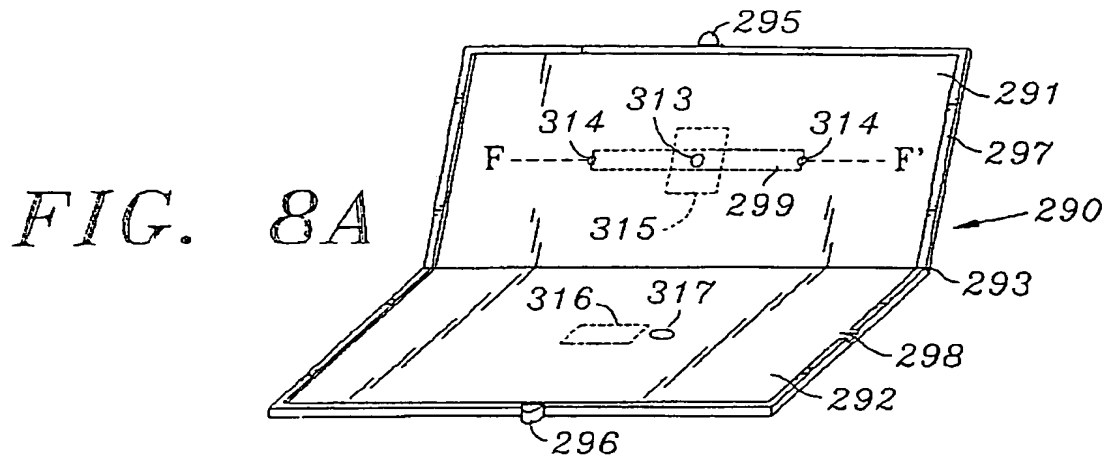
【図6】



【図7】



【図8】



【図9】

FIG. 9A

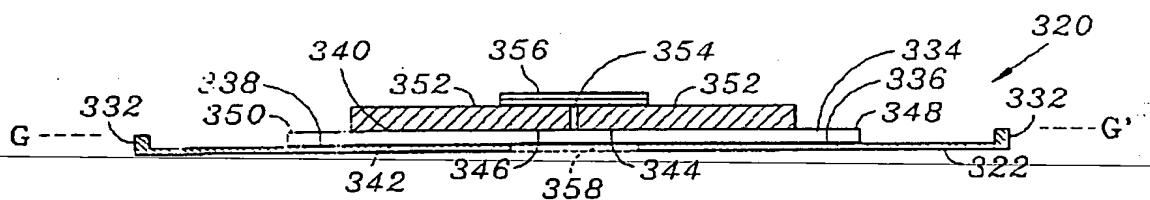
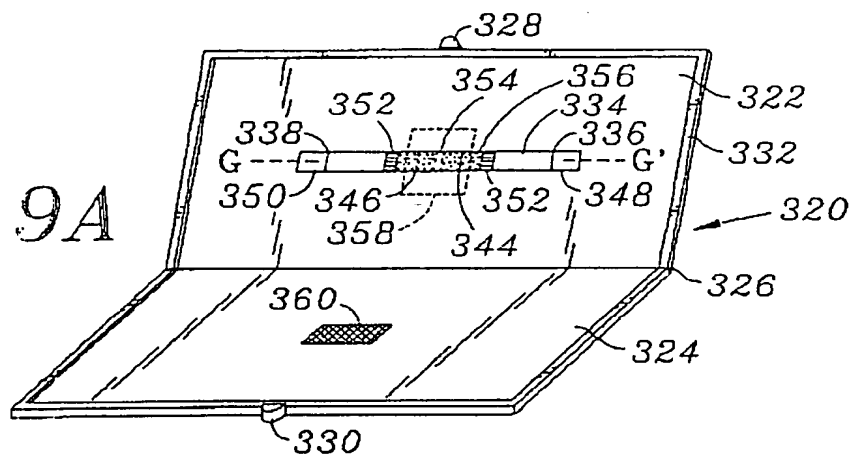
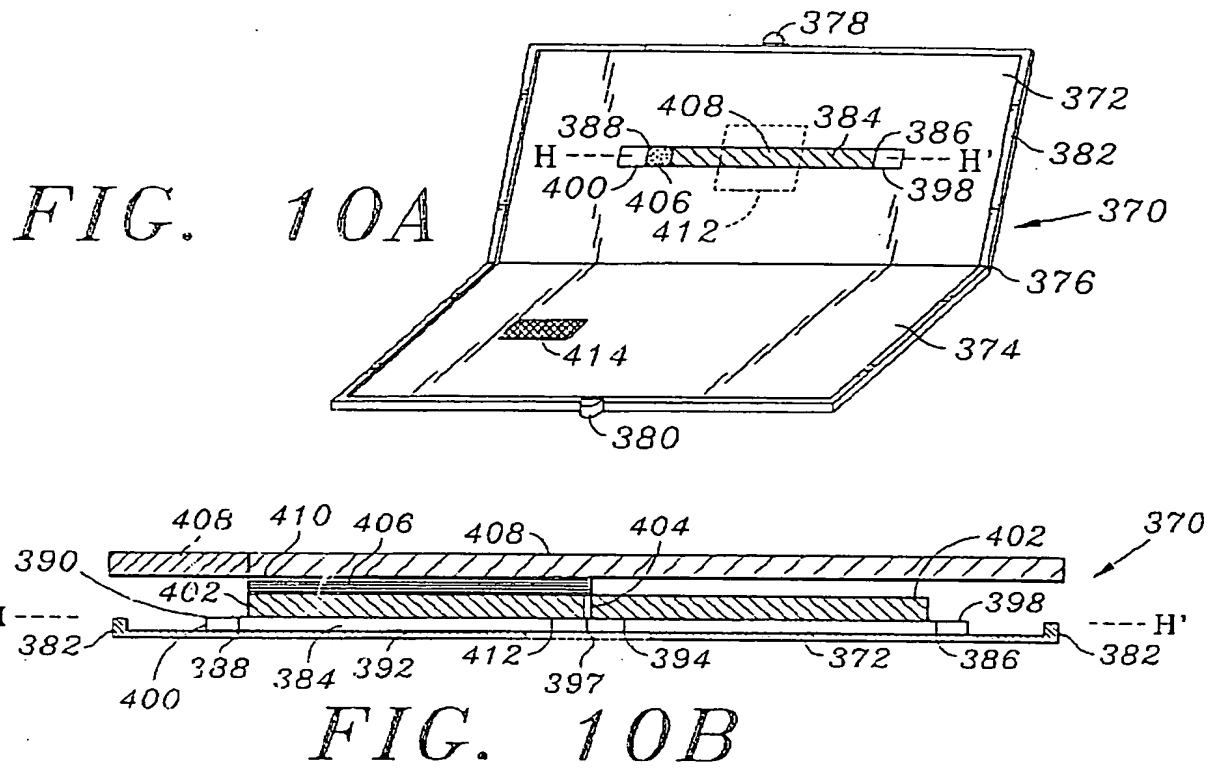


FIG. 9B

【図10】



【図11】

FIG. 11A

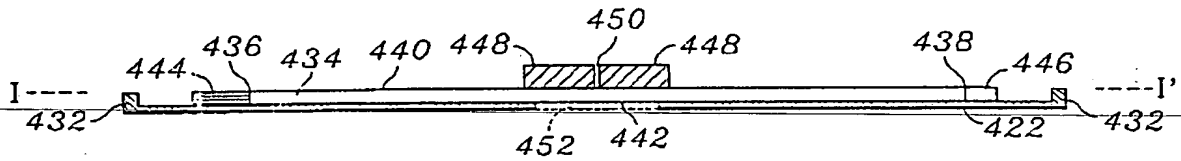
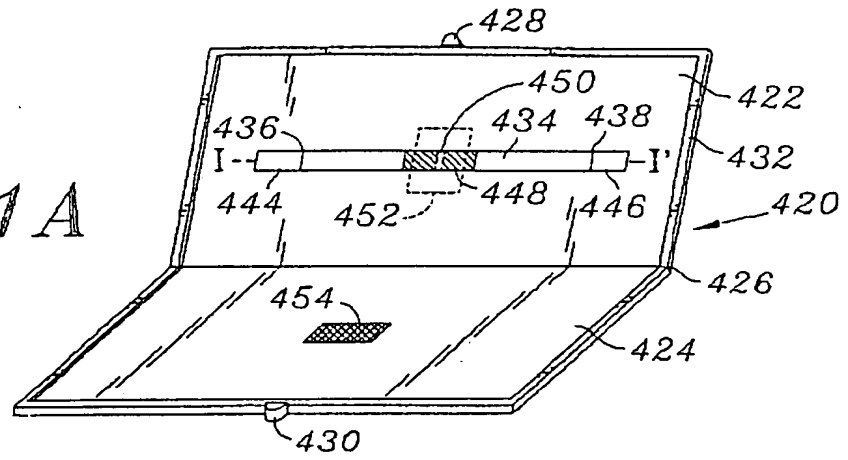
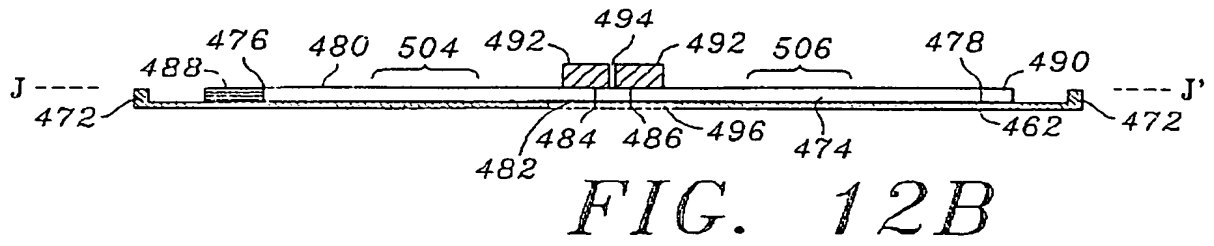
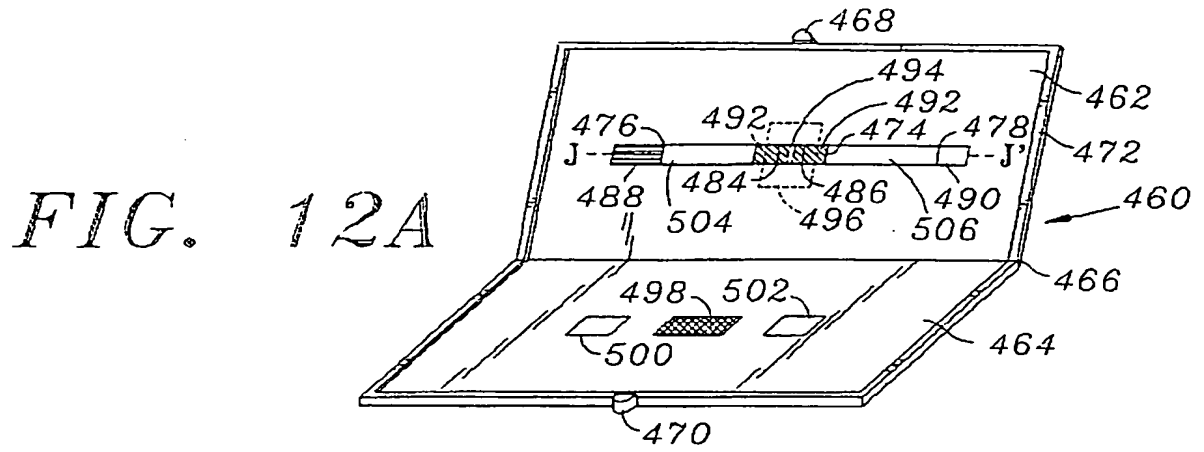


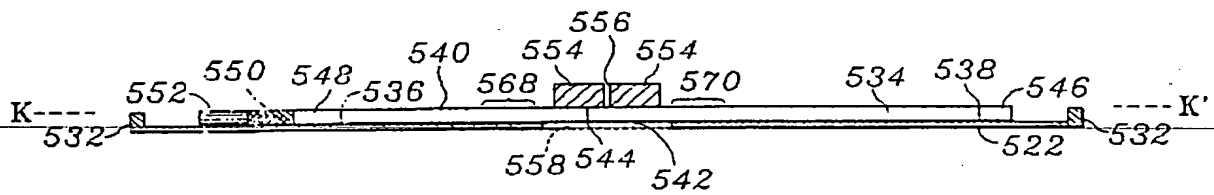
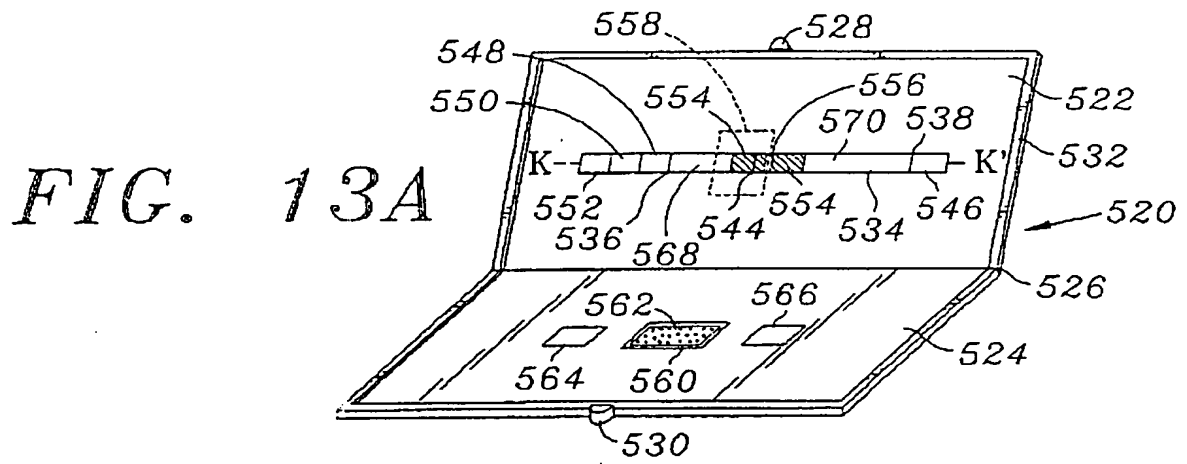
FIG. 11B

【図12】

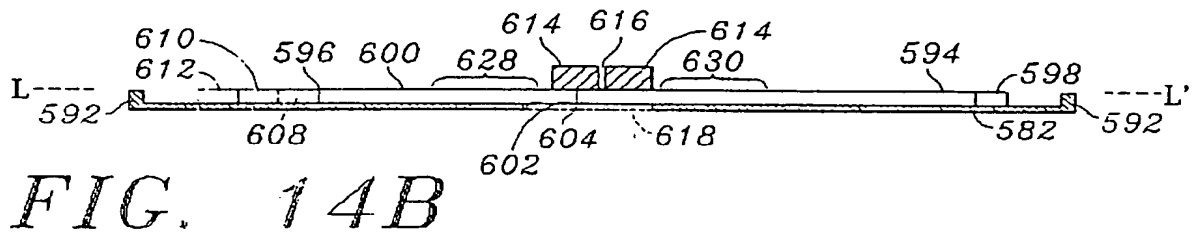
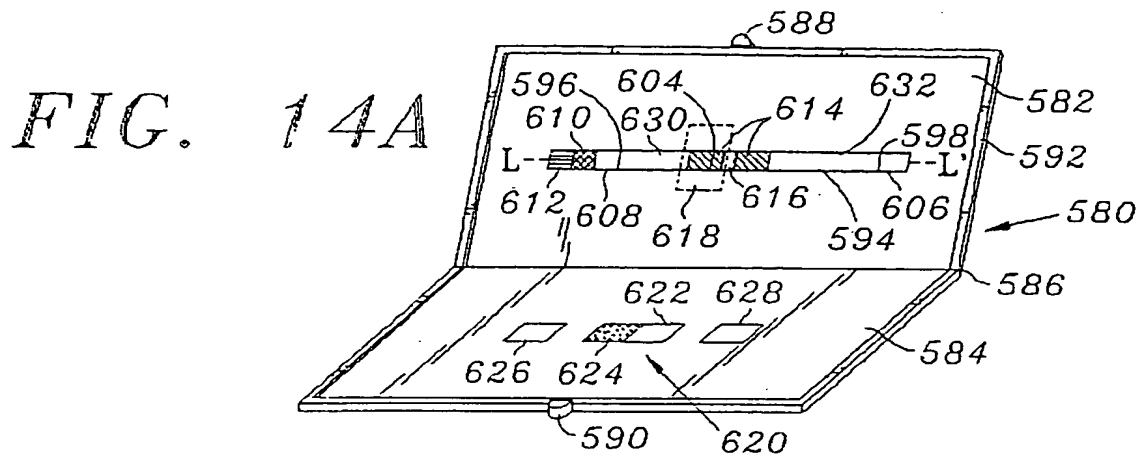




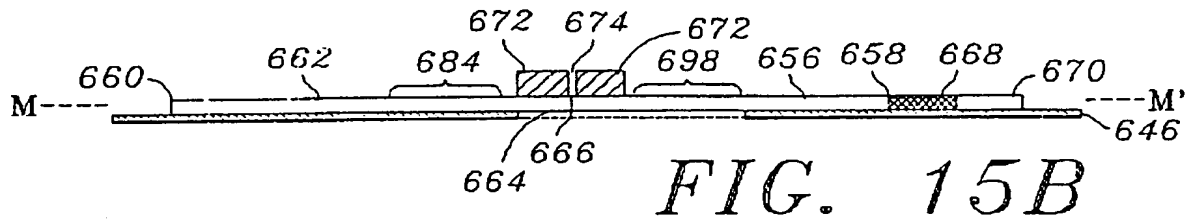
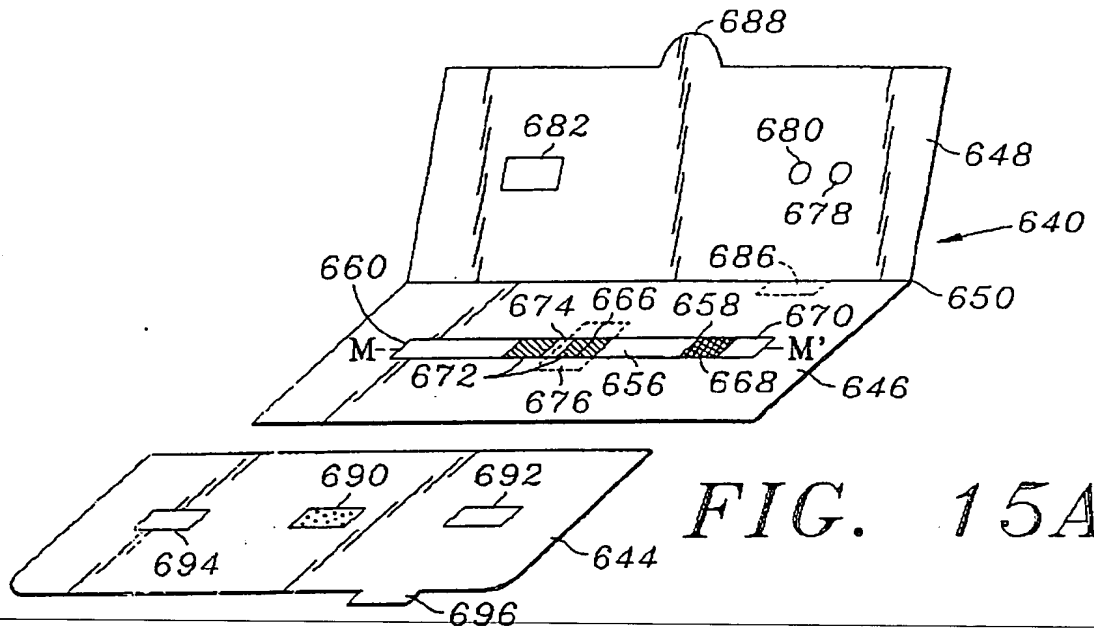
【図13】



【図14】



【図15】



【図16】

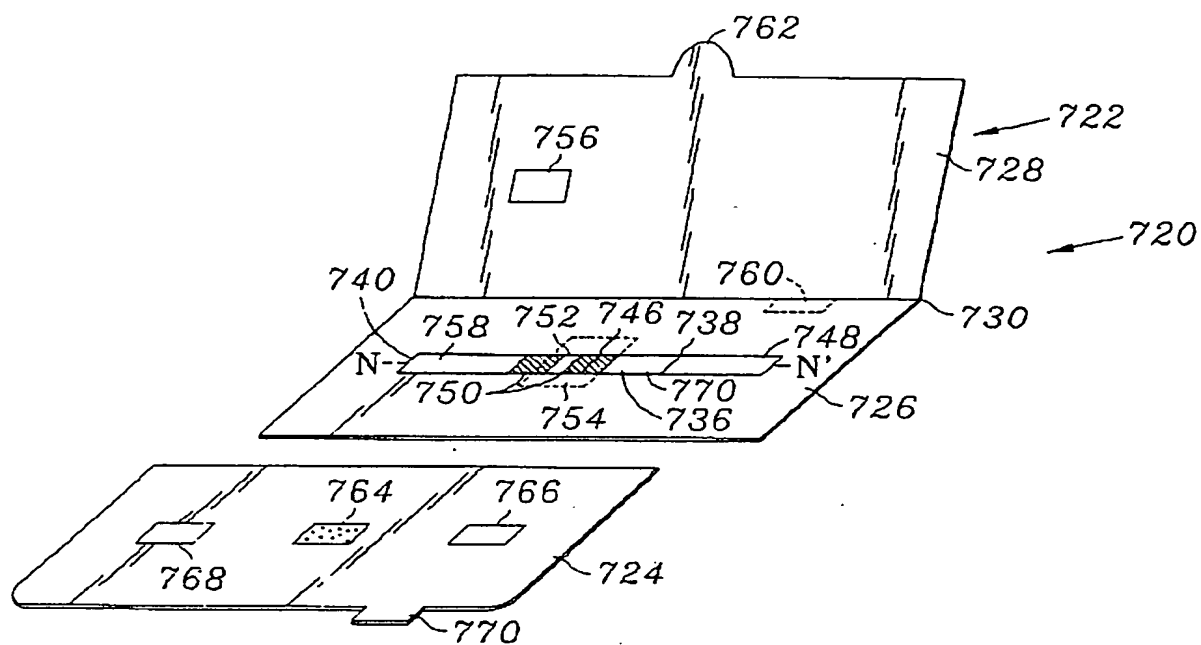


FIG. 16A

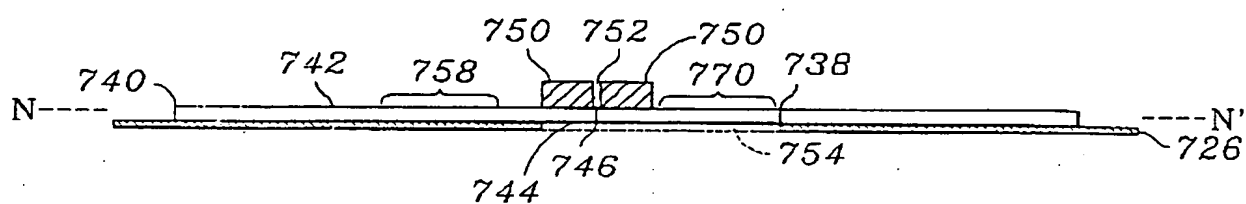


FIG. 16B

【図17】

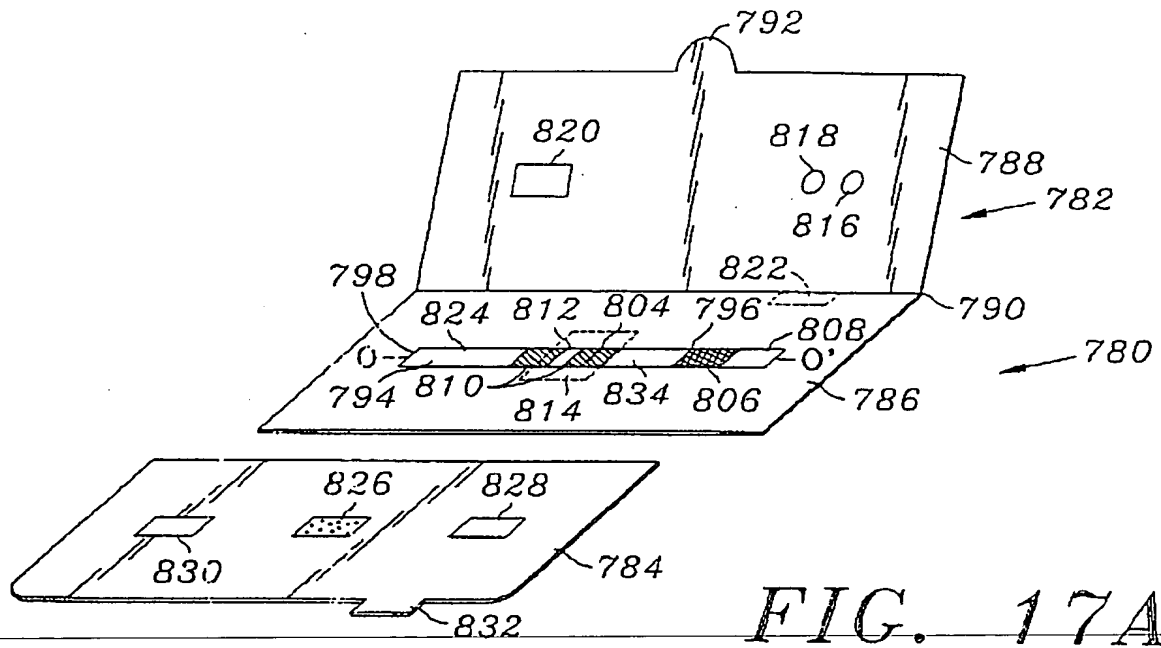


FIG. 17A

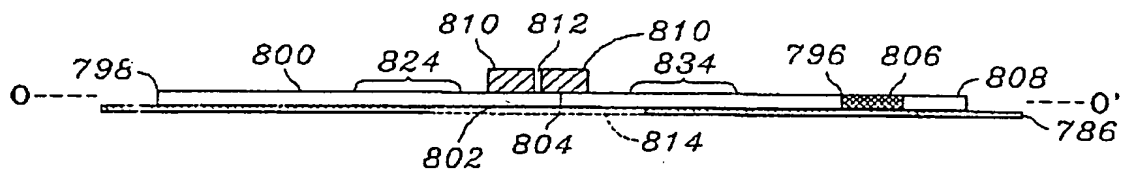


FIG. 17B

【図18】

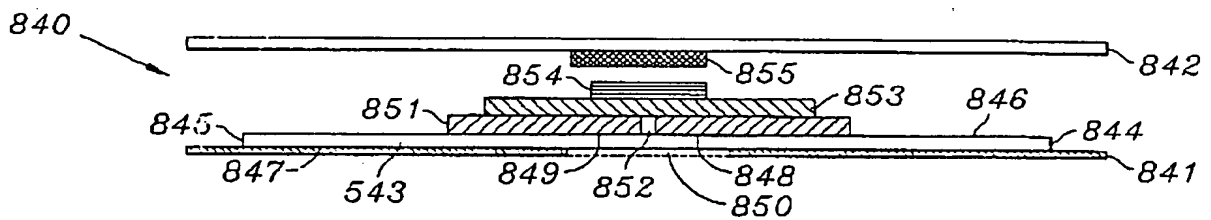


FIG. 18

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US 94/13982
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 6 G01N33/558 G01N33/543 G01N33/58		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO, A, 92 21977 (SMITHKLINE DIAGNOSTICS, INC.) 10 December 1992 ---	
A	EP, A, 0 319 294 (MONOCLONAL ANTIBODIES INC.) 7 June 1989 ---	1
A	EP, A, 0 310 406 (E-Y LABORATORIES, INC.) 5 April 1989 ---	1
A	WO, A, 91 01003 (SECRETARY STATE HEALTH IN HER BRITANNIC MAJESTY'S GOV. OF U. KINGDOM.) 24 January 1991 see the whole document --- -/--	80
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search  29 March 1995		Date of mailing of the international search report  05.04.95
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 3720 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Cartag na y Abella, P

Internal Application No  
PCT/US 94/13982

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, A	WO, A, 94 23300 (SMITHKLINE DIAGNOSTICS) 13 October 1994 see page 40, line 27 - page 41, line 6 see page 42, line 14 - page 43, line 14 see page 45, line 22 - page 46, line 5 see page 46, line 33 - page 47, line 25 -----	1-106

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/US 94/13982

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO-A-9221977	10-12-92	AU-A-	2185292	08-01-93
		CA-A-	2103052	30-11-92
		EP-A-	0586595	16-03-94
		JP-T-	6508215	14-09-94
EP-A-0319294	07-06-89	US-A-	4818677	04-04-89
		DE-D-	3851744	10-11-94
		JP-A-	1244369	28-09-89
EP-A-0310406	05-04-89	US-A-	5006464	09-04-91
		AT-T-	106569	15-06-94
		DE-D-	3889833	07-07-94
		DE-T-	3889833	08-09-94
		ES-T-	2053753	01-08-94
		JP-A-	1140066	01-06-89
WO-A-9101003	24-01-91	AU-A-	5948090	06-02-91
		EP-A-	0481020	22-04-92
WO-A-9423300	13-10-94	AU-B-	6497094	24-10-94



---

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, MW, SD, SZ), AM, AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, ES, FI, GB, GE, HU, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LT, LU, LV, MD, MG, MN, MW, NL, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SI, SK, TJ, TT, UA, US, UZ, VN

## 【要約の続き】

えることができる。

---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**